

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

EAP. DE MEDICINA VETERINARIA

**Frecuencia de enterobacterias en verduras frescas de
consumo crudo expendidas en cuatro mercados de
Lima Metropolitana**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Silvia Melina MUÑOZ JAVIER

ASESOR

Miguel Angel VILCA LÓPEZ

Lima - Perú

2005

A Dios y a mis padres.

A mi abuela Victoria.

A los doctores Miguel A. Vilca L. y Dahne Ramos,
por su apoyo, consejos y enseñanzas.

A los doctores Norma Noé, Sonia Calle y Néstor
Falcón por sus consejos.

A mis amigos y compañeros de la promoción
LXIV, en especial a Nadia, Christian y Jorge, por
el apoyo e incentivo en el desarrollo y culminación
del presente trabajo.

A mis tíos Olga, Gabriel, Aleja, Juan, Vicky,
Lorenzo, Julia, Víctor, Dina, Orfilia, Carlos, Esther
y a mis primos Lubby, Elisa, Eduardo, Isabel,
Enrique, Juan Carlos y Roberto.

A mis amigos Giovanna, Angélica, Maynor y
Eliana.

A la memoria de mi abuela Victoria.

INDICE

| | Pg. |
|---|-----------|
| ABREVIATURAS..... | ix |
| RESUMEN..... | x |
| SUMMARY..... | xi |
| LISTA DE CUADROS..... | xii |
| LISTA DE FIGURAS..... | xiii |
| I. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 3 |
| 2.1. Las verduras y la importancia de su consumo..... | 3 |
| 2.2. Prácticas agrícolas que favorecen la contaminación de las verduras..... | 5 |
| 2.3. Factores de contaminación antes de la cosecha..... | 5 |
| 2.3.1. El agua de irrigación..... | 6 |
| 2.3.2. Factores asociados a la sobrevivencia de los patógenos sobre las verduras..... | 8 |
| 2.4. Factores de contaminación después de la cosecha..... | 9 |
| 2.5. Los mercados de abastos en Lima Metropolitana..... | 11 |
| 2.5.1. Situación actual del comercio mayorista de hortalizas en Lima Metropolitana. | 11 |
| 2.6. Microbiología de las verduras crudas..... | 13 |
| 2.7. Bacterias coliformes y coliformes fecales..... | 14 |
| 2.7.1. Los coliformes como microorganismos indicadores..... | 15 |
| 2.8. <i>Escherichia coli</i>..... | 17 |
| 2.8.1. Estructura antigénica..... | 18 |
| 2.8.2. Clasificación..... | 18 |

| | |
|--|-----------|
| 2.9. <i>Salmonella</i> spp..... | 20 |
| 2.9.1. Estructura antigénica..... | 21 |
| 2.9.2. Clasificación..... | 21 |
| 2.10. Enfermedades diarreicas asociadas al consumo de verduras crudas..... | 24 |
| 2.11. Colibacilosis por <i>E. coli</i> enterotoxigénica..... | 25 |
| 2.11.1. Reservorio..... | 25 |
| 2.11.2 Patogenia..... | 25 |
| 2.11.3. Signos clínicos..... | 27 |
| 2.11.4. Diagnóstico..... | 28 |
| 2.11.5. Tratamiento..... | 29 |
| 2.11.6. Ocurrencia en el hombre..... | 29 |
| 2.11.7. La enfermedad en los animales..... | 30 |
| 2.11.8. Contaminación de alimentos..... | 31 |
| 2.12. Salmonelosis y fiebre entérica..... | 32 |
| 2.12.1. Reservorio..... | 32 |
| 2.12.2 Patogenia..... | 33 |
| 2.12.3. Signos clínicos..... | 37 |
| 2.12.4. Diagnóstico..... | 40 |
| 2.12.5. Tratamiento..... | 41 |
| 2.12.6. Ocurrencia en el hombre..... | 42 |
| 2.12.7. La enfermedad en los animales..... | 44 |
| 2.12.8. Contaminación de alimentos..... | 45 |
| 2.13. Medidas de prevención y control en enfermedades gastrointestinales producidas por <i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i> spp..... | 47 |
| 2.13.1. Medidas de prevención y control en el campo..... | 50 |
| 2.13.2. Uso del cloro en la descontaminación de los vegetales..... | 53 |
| 2.14. Las enfermedades infecciosas intestinales y su morbilidad-mortalidad en el Perú..... | 54 |
| 2.15. Calificación sanitaria de los productos agrícolas..... | 56 |

| | |
|---|-----|
| III. MATERIALES Y METODOS | |
| 3.1. Lugar de estudio..... | 62 |
| 3.2. Universo y tamaño muestral..... | 63 |
| 3.3. Muestreo y transporte de muestras..... | 64 |
| 3.4. Ensayos microbiológicos..... | 64 |
| 3.4.1. Técnica del Número Mas Probable (NMP) para recuento de coliformes..... | 64 |
| 3.4.1.1. Interpretación y expresión de resultados..... | 65 |
| 3.4.2. Aislamiento e identificación de salmonelas..... | 65 |
| 3.4.2.1. Interpretación y expresión de resultados..... | 65 |
| 3.5. Procesamiento de datos..... | 66 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 67 |
| V. CONCLUSIONES..... | 96 |
| VI. RECOMENDACIONES..... | 98 |
| VII. LITERATURA CITADA..... | 99 |
| VIII. APÉNDICES..... | 110 |
| IX. ANEXOS..... | 117 |

ABREVIATURAS

| | |
|--------------------|---|
| A .P. 0.1% | Agua peptonada al 0.1% |
| CLVBB | Caldo lactosa bilis verde brillante al 2% |
| VRBA | Agar bilis lactosa rojo neutro cristal violeta |
| A. P. | Agua de peptona (salina) |
| EMB | Agar eosina azul de metileno |
| AN | Agar nutritivo |
| CL | Caldo lactosado |
| IMViC | Indol – Rojo de Metilo – Voges Proskauer – Citrato Sódico |
| CT | Caldo triptona |
| CGT | Caldo glucosado tamponado |
| CS | Agar citrato de Simmons |
| A. P. T. 1% | Agua peptonada tamponada al 1% |
| CSC | Caldo selenito cistina |
| CTVB | Caldo tetracionato verde brillante |
| AVB | Agar verde brillante |
| BS | Agar bismuto sulfito |
| SS | Agar Salmonella – Shigella |
| TSI | Agar triple azúcar hierro |
| LIA | Agar lisina hierro |

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el grado de contaminación fecal en 3 de las verduras de mayor consumo crudo expendidas en cuatro importantes mercados mayoristas de Lima Metropolitana. Se recolectaron en total 180 muestras, 15 de lechuga (*Lactuca sativa*), 15 de col (*Brassica oleracea*) y 15 de espinaca (*Spinacea oleracea*) en La Parada, Ramón Castilla, Ceres y Caquetá. Las muestras fueron procesadas según el método del Número más Probable para detección y recuento de coliformes fecales y *E. coli* Tipo I (Típico), así como por la prueba de Ausencia/Presencia para *Salmonella*. El estudio demuestra que el 18.9% y 56.7% del total de verduras, y el 22.2% y 64.4% de verduras provenientes de los mercados 1 y 3, presentaron niveles de colifecales superiores a lo establecido por la ICMSF (100) y el MINSA (10), respectivamente. Además, el 2.2% de verduras del mercado 4 presentó niveles de *E. coli* Tipo I (Típico) superiores a lo establecido por la ICMSF y el MINSA (10). En ambos casos, la espinaca tuvo la mayor contaminación. Respecto a *Salmonella* spp., el 10% de las verduras presentó contaminación, resaltando la col y fue el mercado 2 el que presentó el mayor porcentaje (20%). Los mercados 3 y 4 presentaron las verduras con el mayor porcentaje de aceptabilidad total y el mercado 2 aquellas con el mayor porcentaje de rechazo.

Palabras clave: *Escherichia coli*, *Salmonella*, lechuga, col, espinaca, mercado.

SUMMARY

The purpose of this study was to evaluate the degree of faecal contamination in three vegetables of major raw consumption that are sold in four important wholesale markets in Lima city. A total of 180 samples, 15 lettuce (*Lactuca sativa*) samples, 15 cabbage (*Brassica oleracea*) samples and 15 spinach (*Spinacea oleracea*) samples from La Parada, Ramón Castilla, Ceres and Caquetá were collected. Samples were processed using the Most Probable Number method for faecal coliform and *E. coli* Type I (Typical) detection and count, plus Absence/Presence test for *Salmonella*. In this study 18.9% and 56.7% from all vegetables, and 22.2% and 64.4% of vegetables from markets 1 and 3 displayed faecal coliforms levels higher than those were established by ICMSF (100) and MINSA (10), respectively. In addition, 2.2% vegetables from the market 4 displayed *E. coli* Type I (Typical) levels higher than that was established by ICMSF and MINSA (10). In both cases, spinach had the higher contamination. About *Salmonella* spp., 10% all vegetables were contaminated, standing out the cabbage and the market 2 displayed the higher percentage (20%). Markets 3 and 4 displayed vegetables with higher percents of total acceptance, and the market 2 those with higher percents of reject.

Key words: *Escherichia coli*, *Salmonella*, lettuce, cabbage, spinach, market.

LISTA DE CUADROS

Pg.

| | | |
|-------------------|---|----|
| CUADRO 1. | Coliformes fecales en verduras expendidas en mercados (lechuga, col y espinaca). Rangos según NMP..... | 72 |
| CUADRO 2. | Presencia de coliformes fecales en lechuga, col y espinaca expendidas en cuatro mercados. NMP..... | 73 |
| CUADRO 3. | Presencia de coliformes fecales (CF) en verduras frescas, según el tipo de verdura..... | 76 |
| CUADRO 4. | Presencia de coliformes fecales (CF) en verduras frescas, según el total de verduras analizadas..... | 76 |
| CUADRO 5. | <i>E. coli</i> Tipo I (Típico) en verduras expendidas en mercados (lechuga, col y espinaca). Rangos según NMP..... | 80 |
| CUADRO 6. | Presencia de <i>E. coli</i> Tipo I (Típico) en lechuga, col y espinaca expendidas en cuatro mercados. NMP..... | 81 |
| CUADRO 7. | Presencia de <i>E. coli</i> Tipo I (Típico) (NMP > 10) en verduras frescas, según el mercado de procedencia..... | 83 |
| CUADRO 8. | Presencia de <i>E. coli</i> Tipo I (Típico) (NMP > 10) en verduras frescas, según el tipo de verdura y el total de verduras analizadas..... | 83 |
| CUADRO 9. | Distribución porcentual de verduras según rangos de Número Más Probable (NMP) de coliformes fecales y <i>E. coli</i> Tipo I (Típico)..... | 84 |
| CUADRO 10. | Determinación de <i>Salmonella</i> spp. en lechuga, col y espinaca expendidas en mercados..... | 87 |
| CUADRO 11. | Aislamiento de <i>Salmonella</i> spp. en verduras frescas, según mercado de procedencia..... | 88 |
| CUADRO 12. | Presencia de <i>Salmonella</i> spp. en verduras frescas, según el tipo de verdura..... | 91 |
| CUADRO 13. | Presencia de <i>Salmonella</i> spp. en verduras frescas, según el total de verduras analizadas..... | 91 |

LISTA DE FIGURAS

| | Pg. |
|---|-----|
| FIGURA 1. Calificación sanitaria de 3 verduras expendidas en el mercado 1..... | 93 |
| FIGURA 2. Calificación sanitaria de 3 verduras expendidas en el mercado 2..... | 93 |
| FIGURA 3. Calificación sanitaria de 3 verduras expendidas en el mercado 3..... | 94 |
| FIGURA 4. Calificación sanitaria de 3 verduras expendidas en el mercado 4..... | 94 |
| FIGURA 5. Calificación sanitaria de 3 verduras expendidas en cuatro mercados de Lima Metropolitana..... | 95 |

I. INTRODUCCIÓN

Las verduras expandidas en mercados presentan una alta contaminación, especialmente bacteriana, a consecuencia de diversos factores que actúan tanto en el campo, donde se producen, como en las prácticas de manejo después de la cosecha, destacando entre ellos la irrigación con aguas residuales, el uso del estiércol como abono, la manipulación en las diversas etapas del ciclo productivo y el pésimo estado sanitario de embalajes y transportes (Fasciolo, *et al.*, 1998; ICMSF, 1981).

Todo ello contribuye a convertir las verduras en alimentos de alto riesgo, asociados a brotes epidémicos de diarrea, porque pueden transportar una elevada carga microbiana que se suma al habitual consumo crudo y a las deficientes prácticas de manejo e higiene, comunes en países en vías de desarrollo como el nuestro (Monge *et al.*, 1996; ICMSF, 1981).

Entre los patógenos que pueden ser transportados por las verduras se encuentran *E. coli* y *Salmonella*, cuya ingestión produce cuadros gastrointestinales de diversa severidad (Echandi y Antillón, 2000; Chaidez, 2002). Estas ETA son un factor de gran importancia en la reducción de la productividad socioeconómica,

debido a que generan altas tasas de morbilidad, y además en los grupos susceptibles como los niños menores de cinco años, los ancianos y en los inmunosuprimidos, pueden conducir a septicemias e incluso a la muerte (OPS/OMS, 1998).

El primer paso para controlar la situación descrita debe consistir en conocer el grado de contaminación que presentan las verduras que adquiere el consumidor, por ello el presente estudio tuvo como finalidad analizar el grado de contaminación fecal mediante la determinación de coliformes fecales y *E. coli* Tipo I (Típico), así como evaluar la presencia de *Salmonella*, en tres de las verduras de mayor consumo crudo en nuestro medio, es decir la lechuga (*Lactuca sativa*), la col (*Brassica oleracea*) y la espinaca (*Spinacea oleracea*), al momento de ser expendidas en los mercados mayoristas mas importantes (4) de Lima Metropolitana.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. LAS VERDURAS Y LA IMPORTANCIA DE SU CONSUMO

Los vegetales se definen como plantas herbáceas, de ciclo anual o bienal, cuyos productos presentan un alto contenido de agua, un bajo contenido energético, una corta vida útil después de la cosecha y cuyo propósito es la alimentación ya sea en su estado natural o procesado (García *et al.*, 2002).

Las hortalizas frescas son una parte esencial de la dieta humana y el beneficio para la salud que resulta de su consumo habitual está ampliamente comprobado (Siller *et al.*, 2002). En países como EE.UU., debido al auge de algunas enfermedades ligadas a excesos o desequilibrios en la dieta, el mayor consumo de frutas y vegetales está ampliamente recomendado (FDA, 1998).

Las verduras al ser ingeridas crudas, aportan nutrientes básicos para los procesos vitales del organismo humano tales como sales minerales, vitaminas, proteínas, antioxidantes, enzimas, levaduras y agua biológicamente pura, con muy pocas calorías (García *et al.*, 2002).

En general, favorecen la fluidez natural de la sangre y reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares y debido a la preponderancia de elementos alcalinos neutralizan ácidos, contribuyendo a mantener la reacción básica del organismo (García *et al.*, 2002).

Además, aportan fibra que estimula naturalmente el peristaltismo intestinal y combate el estreñimiento y las sales alcalinas, vitaminas, enzimas y clorofila compensan la baja de vitalidad orgánica, principalmente en invierno, debido a la menor exposición solar y el mayor consumo de alimentos cocinados (García *et al.*, 2002).

En el Perú, verduras como la lechuga, col y espinaca están ampliamente difundidas a nivel gastronómico y su producción alcanza volúmenes importantes en la agricultura. Así tenemos que durante el 2001, se produjeron 46.715 miles de TM de lechuga, 48.330 miles de TM de col y 8.291 miles de TM de espinaca; y durante el 2002, 38.410 miles de TM de lechuga, 34.886 miles de TM de col y 11.373 miles de TM de espinaca (MINAG, 2005).

Según el MINAG, en 1999, el Mercado Mayorista N° 1 comercializó volúmenes de 399, 1.108 y 93 toneladas de espinaca, lechuga y col, respectivamente. El registro de ingreso según el departamento de procedencia, señala a Junín (Tarma) para el total de espinacas, y tanto a Lima-Callao (Lima) y Junín (Huancayo) como proveedores de lechuga seda o criolla/serrana, con 146 y 20 TM, respectivamente (MINAG, 2003).

En ese mismo año, el mayor volumen de ingreso de espinaca al referido mercado se registró en el mes de febrero (49 TM), para el caso de la lechuga éste se dió en mayo (136 TM) y para la col en el mes de octubre (15 TM) (MINAG, 2003).

2.2. PRÁCTICAS AGRÍCOLAS QUE FAVORECEN LA CONTAMINACIÓN DE LAS VERDURAS

Las prácticas agrícolas utilizadas en el cultivo de verduras, hacen que este grupo de alimentos se conviertan en vehículo potencial de microorganismos patógenos (Monge *et al.*, 1996); ya sea que se compren en supermercados, tiendas, puestos de mercados o aún cuando se cosechan a nivel familiar (Harris y Cullor, 2002) incrementándose más aún el riesgo, si personas enfermas o portadoras de los agentes participan en dichas labores (OPS/OMS, 1998).

En el campo; el suelo, abono, animales, equipo agrícola y las manos del personal requerido para recolectar, clasificar, atar y envasar son factores que contribuyen a la tasa de microbios y su distribución en el producto (Bihn *et al.*, 1999; Cremona, 2001; Beuchat y Ryu, 1997; ICMSF, 1981; Limongelli *et al.*, 1991). En consecuencia se debe analizar los factores que intervienen en su contaminación.

2.3. FACTORES DE CONTAMINACIÓN ANTES DE LA COSECHA

Normalmente, las hortalizas no deben ser causa de problemas de salud pública, debido a que son resistentes a las infecciones microbianas de origen animal (Acevedo *et al.*, 2001). Sin embargo, al actuar como vehículos, es posible la transmisión de bacterias patógenas desde las hojas, por contaminación directa con heces de animales, uso de estiércol como abono o por la irrigación de las cosechas con aguas de desagüe sin tratar o parcialmente tratadas (Acevedo *et al.*, 2001; Diane, 1995; Islam *et al.*, 2004; Beuchat y Ryu, 1997; García *et al.*, 2002; Echandi y Antillón, 2000; Limongelli *et al.*, 1991).

2.3.1. EL AGUA DE IRRIGACIÓN

La probable presencia de indicadores de contaminación fecal en los productos agrícolas de consumo humano está relacionada directamente con la calidad microbiológica del agua de riego (Fasciolo *et al.*, 1998; Castro de Esparza, 1991). Es así, que los niveles de contaminación existentes en la producción de verduras y hortalizas están en función del uso del recurso hídrico (Flores y Huerta, 1997).

La utilización de aguas residuales para el riego de plantaciones es una práctica común en muchos países de América Latina (OPS/OMS, 1998; Vaz da Costa-Vargas *et al.*, 1991). En la ciudad de la Paz, los ríos Choqueyapu y Orckojahuira conteniendo toneladas de heces, orina y basura que recogen a su paso, son utilizados para regar grandes hectáreas con sembradíos de verduras, lo que sumado a las intensas precipitaciones fluviales y el descontrol de los ríos, aumentan los riesgos en la producción agrícola de la zona (Solón y Gutiérrez, 2001).

En nuestro medio, los agricultores utilizan aguas residuales para el riego de las verduras que siembran y que luego de ser cosechadas son comercializadas en los diferentes mercados de la capital. Las comunidades agrícolas que proveen a los mercados urbanos de Lima Metropolitana comparten en distintos grados la dificultad del acceso al agua de riego, de manera que aquellos cercanos a la desembocadura del río Rímac se ven obligados a servirse de este caudal residual altamente contaminado (Matos y Matos, 1990).

Estas aguas actúan como fuente de infección debido a que transportan materia fecal con microorganismos patógenos que son excretados por personas enfermas o portadores sanos. Entre las bacterias patógenas de mayor interés en aguas residuales sin tratar se encuentran *E. coli* y *Salmonella* spp. (Limongelli *et al.*, 1991).

La persistencia de bacterias entéricas en el agua depende de una variedad de factores ambientales que incluyen temperatura, pH, luz solar, depredación, sustancias orgánicas disueltas, ligación a partículas, asociación con vectores y la presencia de sales y otros solutos (Reynolds, 2002).

La temperatura es probablemente el factor más importante, con una supervivencia más duradera a menores temperaturas. La mayoría de bacterias entéricas son menos estables cuando el pH es >9 y <6 . La presencia de materia orgánica y sedimentos ayuda a la supervivencia protegiendo a las bacterias de otros efectos ambientales. Un mayor contenido de humedad en los suelos también ayuda en la subsistencia ambiental (Reynolds, 2002).

Salmonella spp. y otras bacterias potencialmente patógenas han sido reportadas a partir de aguas residuales, aguas de río, y efluentes industriales provenientes de camales y de plantas de embalaje de aves. En un estudio similar, *Salmonella* spp. fue recuperada de aguas de irrigación contaminadas con aguas residuales crudas o efluentes primariamente tratados con cloro; en este caso una muestra de 97 vegetales irrigados con estas aguas presentó salmonelas (Beuchat y Ryu, 1997).

Frente a situaciones similares las autoridades sanitarias deben actuar y así por ejemplo, en 1995, las nuevas regulaciones del Ministerio de Salud de Israel, determinaron que las fuentes de agua de regadío sean protegidas y cercadas a fin de controlar a las fuentes potenciales de polución tales como granjas animales, plantas de tratamiento de aguas residuales, vertederos de desechos sólidos e industriales, almacenes de combustible y colectoras de aguas residuales (Tulchinsky *et al.*, 2000).

2.3.2. FACTORES ASOCIADOS A LA SOBREVIVENCIA DE LOS PATÓGENOS SOBRE LAS VERDURAS

La contaminación microbiológica de las verduras toma mayor importancia al considerar que el tiempo de supervivencia de los microorganismos patógenos puede ser prolongado, semanas o meses (Chaidez, 2002; Monge *et al.*, 1996); particularmente cuando éstos se encuentran en las áreas mas húmedas del vegetal y protegidas de la desecación y de los rayos directos del sol, como suele ocurrir en la lechuga y la col (Monge *et al.*, 1996).

Se ha demostrado que la frecuente contaminación del suelo por repetidas aplicaciones de agua contaminada o por heces de animales, contrarresta los factores ambientales adversos y permite que los agentes patógenos permanezcan viables en la tierra por dos meses o más (Monge *et al.*, 1996). Además, se debe considerar como influencia la existencia de lluvias antes de la cosecha (Limongelli *et al.*, 1991), el pH del suelo (Castro de Esparza, 1991) y agua (Rico *et al.*, 1988).

Los períodos de supervivencia de los microorganismos, además de reflejar variaciones entre cepas, están muy influenciados por factores climáticos (Fasciolo *et al.*, 1998; Vaz da Costa-Vargas *et al.*, 1991). El calor (Limongelli *et al.*, 1991), la alta irradiación solar (Vaz da Costa-Vargas *et al.*, 1991) y la baja humedad del aire (Fasciolo *et al.*, 1998) favorecen la muerte de los patógenos.

De otro lado, las salpicaduras de tierra al caer la lluvia, no juegan un papel importante en el transporte de los agentes contaminantes a las hortalizas, debido a que las bacterias depositadas en el suelo, principalmente vía excreción fecal, son inmovilizadas y fijadas en un sitio específico (Monge *et al.*, 1996).

Se debe destacar la incidencia del tipo de cultivo en cuanto a su ubicación con respecto a la superficie de la tierra (Fasciolo *et al.*, 1998; Castro de Esparza, 1991). Los productos que crecen a flor de tierra están más contaminados con

coliformes fecales que los que crecen bajo tierra y que los menos contaminados son los de tallo alto (Fasciolo *et al.*, 1998).

También incide el período de tiempo que media entre el último riego y la cosecha ya que un mayor período favorece la obtención de productos agrícolas de mejor calidad bacteriológica (Fasciolo *et al.*, 1998).

De esta manera, los organismos patógenos que llegan con las aguas residuales sobreviven en el suelo y plantas por períodos de tiempo suficientemente largos como para ser transportados a los mercados e ingeridos por individuos sanos y susceptibles, produciendo en ellos enfermedad (Flores y Huerta, 1997), a menos que se realicen efectivos procedimientos de desinfección (Beuchat y Ryu, 1997).

2.4. FACTORES DE CONTAMINACIÓN DESPUES DE LA COSECHA

Algunos estudios realizados en diferentes países indican que la utilización de aguas no tratadas para la irrigación de verduras, es la práctica que más influye en la reducción de la calidad sanitaria de estos alimentos. No obstante, el uso de aguas sin tratamiento no es el único factor responsable de la contaminación, pues algunos autores sugieren que sólo el 48% de la *E. coli* presente en estos alimentos, proviene de los coliformes fecales del agua de irrigación (Monge *et al.*, 1996).

De otro lado, diversas investigaciones señalan que los índices de contaminación fecal de los productos hortícolas son mayores en las áreas de mercado que en las de cultivo (Monge *et al.*, 1996). Después de la cosecha, en el empaque, en los contenedores y vehículos utilizados para el transporte, almacenamiento y exhibición para la venta existen muchas ocasiones para que los microorganismos contaminen las verduras (Bihn *et al.*, 1999; Cremona, 2001; Beuchat y Ryu, 1997; ICMSF, 1981; Limongelli *et al.*, 1991).

El daño causado a los vegetales durante el transporte, refrescamiento y mercadeo, conlleva la liberación de algunos nutrientes que favorecen el desarrollo microbiano; por ello, la manipulación puede ser una de las causas más importantes de contaminación después de la cosecha y es válida para todos los productos agrícolas, incluso para aquellos irrigados con aguas limpias (Castro de Esparza, 1991).

En los mercados, cualquier hortaliza expendida al menudeo puede estar contaminada, pues a pesar de existir una red de distribución establecida en la cual los agricultores recurren a la intervención de intermediarios mayoristas, existe a la vez una red paralela de minoristas, informales y ambulantes que aprovechando su cercanía a las áreas agrícolas, compran en las mismas parcelas y revenden en los mercados vecinos (Matos y Matos, 1990).

De esta manera, no es posible establecer el origen del producto comprado por el consumidor final y se confunde lo contaminado y lo limpio. Esta situación se agrava por la suciedad y la falta de higiene de los embalajes de exhibición, almacenes y puestos de venta, que terminan igualando la condición higiénica de los productos que vienen de chacras más limpias con aquella antihigiénica de los que proceden de huertas regadas con aguas residuales (Matos y Matos, 1990).

Por todo esto, las verduras constituyen una fuente de microorganismos patógenos que pueden pasar a otros alimentos (ICMSF, 1981) y también contaminar las manos de los manipuladores, equipos y utensilios que se utilizan durante su procesamiento, propiciando la contaminación cruzada consecuente y una mayor difusión de ETA (Castro de Esparza, 1991; Hobbs y Roberts, 1997).

2.5. LOS MERCADOS DE ABASTOS EN LIMA METROPOLITANA

Lima Metropolitana cuenta con 592 mercados de abastos que suman un total de 74,346 puestos fijos. De éstos, el 72% se encuentran operativos mientras que 20,669 puestos están desocupados; es decir el 28% no brindan atención al público (INEI, 1997).

El Mayorista Nº 1, ubicado en el distrito de La Victoria, es el cuarto mercado de abastos con mayor número de puestos fijos (744), todos ellos en funcionamiento y con un área de terreno de 35.941 m² (INEI, 1997).

Respecto al material predominante en la construcción, en Lima Metropolitana el 78% ha sido construido con material noble, el 15% predominantemente con madera, el 5% con adobe y el 2% con otros materiales (INEI, 1997).

Una de las variables importantes para el análisis de los estudios relacionados con la salud pública, es la disponibilidad de servicios higiénicos en los grandes centros de concentración. En Lima Metropolitana, se observa que de 592 mercados investigados, el 92% poseen servicios higiénicos y sólo el 8% no disponen de este servicio básico (INEI, 1997).

2.5.1. SITUACIÓN ACTUAL DEL COMERCIO MAYORISTA DE HORTALIZAS EN LIMA METROPOLITANA

Los mercados mayoristas, a nivel urbano, cumplen una función de acopio, fraccionamiento y distribución para satisfacer las necesidades comerciales de los comerciantes minoristas. El destino final de los productos alimenticios agrícolas perecederos ingresados a Lima Metropolitana y el Callao, es el consumo directo dentro del hogar, institucional, para la industria, y también para la reexpedición a otras ciudades del país (EMMSA, 2005).

Para abastecer el área de Lima Metropolitana y el Callao, el comercio mayorista de hortalizas se realiza por diferentes canales urbanos de distribución. El principal es el Mercado Mayorista N° 1 (La Parada), donde se comercializa un volumen promedio de 1'140,000 TM/anuales de hortalizas, legumbres y tubérculos (EMMSA, 2005).

Debido a la antigüedad de este mercado, el mercadeo mayorista de alimentos se desarrolla en infraestructuras pequeñas, obsoletas y mal ubicadas que hacen imposible mejorar las funciones económicas y físicas que deben cumplirse en los mercados mayoristas (EMMSA, 2005).

Esta situación configura una problemática caracterizada principalmente por distorsión en la formación de los precios, tugurización, hacinamiento, pérdidas de productos por mermas, congestión del tránsito, acumulación de basura y falta de higiene en general que perjudica a productores, transportistas, comerciantes mayoristas, minoristas, consumidores en general y familias que trabajan y viven en la zona de influencia (EMMSA, 2005).

Otros centros de comercio de estos productos son el Mercado de Caquetá en el distrito de San Martín de Porres, el Mercado Ramón Castilla en El Cercado, el Mercado Ceres en Vitarte, el Mercado de Angélica Gamarra en Los Olivos, el Mercado de Puente Piedra en el distrito del mismo nombre, entre otros; además de establecimientos y vías públicas alrededor del Mercado Mayorista N° 1 (EMMSA, 2005).

De otro lado, las cadenas de supermercados e hipermercados ubicadas en diferentes distritos de Lima Metropolitana y el Callao son abastecidas parcialmente por sus propias centrales logísticas. Además, existe un abastecimiento parcial de carácter institucional (hospitales, restaurantes, fuerzas armadas, etc.) (EMMSA, 2005).

2.6. MICROBIOLOGÍA DE LAS VERDURAS CRUDAS

Desde el punto de vista de salud pública, la calidad microbiológica de las verduras frescas destinadas al consumo crudo es muy importante. Se ha destacado que todos los brotes de enfermedades relacionadas con el consumo de verduras están asociados con la contaminación superficial de estos vegetales por el agente etiológico, como consecuencia de los sistemas de manejo utilizados en el cultivo, tratamiento, embalaje o transporte al mercado (Fasciolo *et al.*, 1998; ICMSF, 1981).

Normalmente, los vegetales frescos albergan una población diversa de microorganismos, siendo frecuentes cantidades de $10^5 - 10^7$ UFC/g. Entre el 80 - 90% de las bacterias son bastones Gram negativos, predominando especies de *Pseudomonas*, *Enterobacter* o *Erwinia* (Acevedo *et al.*, 2001).

Respecto a las determinaciones microbiológicas, en las verduras frescas, no es recomendable efectuar el ensayo de recuento total de microorganismos ni de coliformes totales, ya que es altamente improbable que tales determinaciones tengan significado para la salud del hombre debido a la posible presencia en áreas localizadas de altas tasas de patógenos de las plantas que enmascararían dichos resultados (ICMSF, 1981).

Sin embargo, el hallazgo de microorganismos indicadores como los coliformes fecales en alimentos como la lechuga y la espinaca (Limongelli *et al.*, 1991) puede significar que otros patógenos entéricos como *Salmonella*, también están presentes (OPS/OMS, 1998). La detección específica de *E. coli* y *Salmonella* puede indicar una contaminación fecal en la superficie de los vegetales (ICMSF, 1981).

Estos importantes índices de contaminación, sugieren la presencia y supervivencia de otras bacterias entéricas tales como *Shigella* spp, ya que sus períodos de sobrevivencia son iguales a los señalados para coliformes fecales y *Salmonella* spp, aunque algunos autores indican que *Shigella* spp. puede sobrevivir mayor tiempo, principalmente cuando se encuentra en las áreas mas propicias del vegetal (Monge *et al.*, 1996).

Entre las bacterias patógenas que han sido asociadas con el consumo de hortalizas frescas se pueden mencionar a *E. coli* enterotoxigénica, *E. coli* enterohemorrágica y especies de *Salmonella* spp, entre otras (Echandi y Antillón, 2000; Chaidez, 2002) las cuales están descritas por la OMS como una nueva y significativa amenaza a la salud pública (Echandi y Antillón, 2000).

2.7. BACTERIAS COLIFORMES Y COLIFORMES FECALES

Los coliformes son bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos, no esporulados, capaces de fermentar la lactosa con producción de gas a 35° C en 48 h (OPS/OMS, 1998; García *et al.*, 2002; Acuña *et al.*, 2002; Feng y Weagant, 2002b). El término habitual coliformes comprende a *Escherichia coli* y a diversas especies pertenecientes a otros géneros de la familia *Enterobacteriaceae* como *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter* (ICMSF, 1999; OPS/OMS, 1998; Acuña *et al.*, 2002).

Los coliformes fecales o “termotolerantes” comprenden un grupo de microorganismos seleccionados por incubación de los inóculos procedentes de un caldo de enriquecimiento de coliformes, capaces de crecer y fermentar la lactosa a 44.5 - 45.5° C, en un lapso no mayor de 48 horas (ICMSF, 1999; OPS/OMS, 1998; Feng y Weagant, 2002b).

2.7.1. LOS COLIFORMES COMO MICROORGANISMOS INDICADORES

Tradicionalmente, en el monitoreo de contaminación microbiana se lleva a cabo la detección de microorganismos "indicadores" de contaminación fecal (Chaidez, 2002).

Los indicadores son grupos (o especies) de microorganismos cuya enumeración o recuento se realiza con facilidad y cuya presencia en los alimentos (en determinado número) indica si los productos estuvieron expuestos a condiciones que pudieran haber introducido organismos potencialmente patógenos y/o permitido la multiplicación de especies infecciosas o toxigénicas (ICMSF, 1999; Chaidez, 2002; García *et al.*, 2002; Acuña *et al.*, 2002; Feng y Weagant, 2002b).

El principal objetivo de la utilización de bacterias como indicadores de prácticas no sanitarias es revelar defectos de tratamiento que llevan consigo un peligro potencial, peligro que no está necesariamente presente en la muestra particular examinada, pero que es probable pueda encontrarse en muestras paralelas (ICMSF, 1999).

Los coliformes han sido considerados como indicadores (Chaidez, 2002; García *et al.*, 2002); sin embargo, microorganismos del género *Enterobacter* se pueden encontrar también en el suelo, alcantarillas, agua, plantas, vegetales y alimentos de origen animal, por lo que rara vez se le reporta como patógeno entérico (OPS/OMS, 1998; Acevedo *et al.*, 2001).

De igual modo, *Citrobacter freundii* es la especie bacteriana que más abunda en los alimentos, siendo frecuente en las superficies de las hortalizas y carnes frescas (Acevedo *et al.*, 2001). *Klebsiella* también puede ser aislada en ambientes

no asociados con la contaminación fecal (OPS/OMS, 1998), por lo que su presencia en los alimentos puede no estar determinada por este tipo de contaminación (García *et al.*, 2002).

Escherichia coli es la especie más asociada a materia fecal ya que su hábitat natural primario es el tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente, llegando a números que van de 10^5 a 10^9 microorganismos/g de heces (ICMSF, 1999; Chaidez, 2002; García *et al.*, 2002; OPS/OMS, 1998; Feng y Weagant, 2002b).

Por lo tanto, la presencia de este microorganismo en un alimento indica generalmente una contaminación directa o indirecta de origen fecal (OPS/OMS, 1998; ICMSF, 1999; Hobbs y Roberts, 1997; Blanco *et al.*, 2002; Feng y Weagant, 2002b) y lo convierten en el único microorganismo índice válido en el análisis de los vegetales frescos (ICMSF, 1999; Vaz da Costa-Vargas *et al.*, 1991).

La enumeración de *E. coli* y sus niveles detectados en los alimentos pueden estar influenciados por factores como la multiplicación del microorganismo, su muerte o inactivación o su adherencia a las partículas del alimento. En muchos casos, los recuentos de *Enterobacteriaceae* no guardan relación con la cuantía de la contaminación originada a partir de fuentes fecales, debido a que pueden multiplicarse en algunos alimentos mientras que tienden a disminuir en otros y en el agua (ICMSF, 1999).

Con todo, la simple presencia de *E. coli* o un recuento de coliformes fecales indicará una contaminación fecal, sugiriendo una falta general de limpieza en el manejo del alimento y/o un almacenamiento inadecuado (ICMSF, 1999; Feng y Weagant, 2002b).

Es importante destacar, que el hallazgo de *E. coli* en un alimento no constituye una connotación directa de la presencia de un patógeno, sino que implica únicamente un cierto riesgo de que pudiera estar presente (ICMSF, 1999; Hobbs y Roberts, 1997; Acuña *et al.*, 2002; Rodríguez, 2003a); es decir, su hallazgo no guarda siempre una estrecha correlación con la presencia de salmonelas o de otros microorganismos patógenos (ICMSF, 1999).

2.8. *Escherichia coli*

El género *Escherichia* comprende 5 especies: *E. coli*, que es la especie tipo; *E. hermannii*, aislada de la sangre, líquido cefalorraquídeo, infecciones de heridas y en las heces; *E. vulneris*, aislada en infecciones de heridas; *E. fergusonii*, aislada de la sangre, orina, heces y de los animales y *E. blattae* (Jaklik, 1994; Blanco, *et al.*, 2002).

De todas las especies, solamente *E. coli* tiene significación clínica (Blanco *et al.*, 2002) ya que es responsable de casi todas las infecciones de importancia causadas por el género, en tanto que las otras especies explican menos del 1% de los aislamientos clínicos de éste en enfermedades humanas (Jaklik, 1994).

Escherichia coli suele ser resistente a las temperaturas extremas y a los ácidos débiles (Rodríguez, 2003a). En el laboratorio, por mutación, un bajo porcentaje de cepas puede tener perdida la capacidad de fermentar la lactosa, o lo hace tan lentamente al punto de no ser detectada dentro de los períodos normales de incubación utilizados (OPS/OMS, 1998).

Por ello, la prueba de producción de indol a partir de triptófano en alta temperatura es una prueba utilizada paralelamente a la fermentación de la lactosa y ofrece resultados más confiables, pues cerca de 99% de las *E. coli* son indol positivas (OPS/OMS, 1998).

2.8.1. ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

E. coli se clasifica en diferentes serotipos de acuerdo con el esquema elaborado por Kauffman; el cual se basa en los antígenos somáticos O, polisacáridos y termoestables que diferencian a *E. coli* en más de 170 serogrupos y el antígeno flagelar H, termolábil y de naturaleza proteica que distingue los serotipos (56) de cada serogrupo (Blanco *et al.*, 2002). Además son importantes los antígenos K (capsulares I y II) y F (fimbriales) (Acha, 2003; Jaklik, 1994; Acuña *et al.*, 2002; Blanco *et al.*, 2002; Arias, 2003).

El antígeno O forma parte del lipopolisacárido (LPS) presente en la membrana externa de la pared celular, mientras que el antígeno K se corresponde con el polisacárido capsular que envuelve la pared celular y enmascara el antígeno O inhibiendo su aglutinación (Blanco *et al.*, 2002).

La determinación del perfil antigénico de las diferentes cepas sirve para relacionar un tipo antigénico particular con alguna de las formas diarreicas producidas por *E. coli*. La determinación de los antígenos O y H se realiza por técnicas de aglutinación, mientras que la identificación del antígeno K se realiza por contrainmunolectroforesis (Blanco *et al.*, 2002).

2.8.2. CLASIFICACIÓN

Desde el punto de vista clínico, *E. coli* se puede dividir en tres grupos (Blanco *et al.*, 2002): Cepas comensales; cepas patógenas extraintestinales (ECPEx) y cepas patógenas intestinales, entéricas o diarreogénicas (Harrinson, 2002; Rodríguez, 2003a; Hobbs y Roberts, 1997).

a) Cepas comensales:

Las cepas comensales de *E. coli* constituye una parte esencial de la flora intestinal en humanos sanos, con efectos beneficiosos para la salud (Rodríguez, 2003a; Feng y Weagant, 2002a). *E. coli* coloniza el tracto gastrointestinal a las

pocas horas de vida del niño y establece con el huésped una relación estable de mutuo beneficio, adaptándose a una coexistencia pacífica (Harrinson, 2002; Acuña *et al.*, 2002), suprimiendo el crecimiento de especies bacterianas dañinas y sintetizando cantidades importantes de vitaminas (Geo, 1994).

b) Cepas extraintestinales (ECPEx):

Estas cepas también forman parte de la flora fecal normal humana pero, a diferencia de las comensales, poseen factores de virulencia que les permiten provocar infecciones extraintestinales; causando la mayoría de las infecciones urinarias, intraabdominales, neumonías, osteomielitis, bacteriemias y meningitis del recién nacido (Harrinson, 2002; Geo, 1994; Hobbs y Roberts, 1997).

c) Cepas enteropatógenas (ECE):

Son patógenos obligados, raramente encontradas en la flora fecal de huéspedes sanos y productoras de gastroenteritis si un huésped sin contacto previo las ingiere en cantidad suficiente (Harrinson, 2002).

Existen seis categorías de ECE diferenciadas según su patogenia y propiedades de virulencia: 1) *E. coli* enterotoxigénica (ECET); 2) *E. coli* enterohemorrágica (ECEH); 3) *E. coli* enteropatógena (ECEP); 4) *E. coli* enteroinvasora (ECEI); 5) *E. coli* enteroagregante (ECEA) y 6) *E. coli* difusamente adherente (ECDA) (Harrinson, 2002; Benenson, 1997; Prescott, 1999; Shulman, 1997; Acha, 2003; Acuña *et al.*, 2002; Blanco *et al.*, 2002; Arias, 2003; Hobbs y Roberts, 1997; Feng y Weagant, 2002a). Las cepas de ECET raras veces producen manifestaciones extraintestinales (Shulman, 1997).

De estas cepas, sólo ECET, ECEP, ECEH y ECEI han sido implicadas en enfermedades por consumo de alimentos o agua contaminados (Feng y Weagant, 2002a). En la presente investigación se realizó la identificación de *E. coli* enterotoxigénica (ECET), denominada también *E. coli* Tipo I (Típico), y según la metodología recomendada por la ICMSF (1999).

2.9. *Salmonella* spp.

Los miembros del género *Salmonella* son bacilos Gram-negativos, anaerobios facultativos, no esporulados, generalmente móviles por flagelos peritricos (excepto *Salmonella* gallinarum y *S. pullorum*), indol negativos y lisina positivos (Terragno *et al.*, 2003; Parra *et al.*, 2002; Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002).

No fermentan la lactosa (excepto *S. enterica* subesp. *arizonae* y *S. enterica* subesp. *diarizonae*), pero si fermentan glucosa con producción de gas (excepto *Salmonella* typhi) (Terragno *et al.*, 2003; Parra *et al.*, 2002; Harrison, 2002; Farreras, 1997; Bennett, 1997).

Su multiplicación puede ocurrir entre 7° C y 47° C (OPS/OMS, 1998; Acha, 2003; Vadillo *et al.*, 2002), siendo 37° C la temperatura óptima de crecimiento; sin embargo, puede existir desarrollo desde 5,3° C a 6,2° C (Parra *et al.*, 2002; Jay, 2000).

Puede crecer en un rango de pH de 4.5 a 9.0, estando el valor óptimo entre 6.5 y 7.5 (Acha, 2003; Jay, 2000). El pH 4.0 tiene acción bactericida, situándose en 4.05 el valor mínimo en el cual se observa algún crecimiento (OPS/OMS, 1998; Acevedo *et al.*, 2001; Jay, 2000). De acuerdo a ello, las ensaladas representan un sustrato adecuado para el crecimiento de muchas especies microbianas (Acevedo *et al.*, 2001).

Salmonella es una bacteria no muy resistente a las condiciones ambientales, en especial a la luz solar intensa, desecación, concentraciones elevadas de sal o altas temperaturas (Rodríguez, 2003b). Pese a esto, una vez que se encuentra en el medio ambiente puede sobrevivir en el agua, suelo y superficies inanimadas desde días hasta meses (Acha, 2003); y en las heces desde meses hasta años (Reynolds, 2002) debido a su rápida adaptación al medio donde habita (Rodríguez, 2003b; Sanz, 1994; Vadillo *et al.*, 2002).

2.9.1. ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

La estructura antigénica de *Salmonella*, como la de otras enterobacterias, consta de dos antígenos principales: Antígeno O (somático), lipopolisacárido de la pared bacteriana y factor principal en la caracterización de los diferentes tipos antigénicos; y el antígeno H (flagelar), constituido por una proteína denominada “flagelina” (Parra *et al.*, 2002; Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002).

S. typhi, *S. paratyphi C* y *S. dublín* presentan un tercer antígeno polisacárido de superficie (Vi), que es análogo funcionalmente a los antígenos K de otros géneros (Parra *et al.*, 2002; Terragno *et al.*, 2003; Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002).

La composición de dichos antígenos determina los aproximadamente 2.200 serotipos de *Salmonella*, que se encuentran descritos en el esquema de Kauffman-White (Terragno *et al.*, 2003; Parra *et al.*, 2002; Acha, 2003).

2.9.2. CLASIFICACIÓN

I) CLASIFICACION TAXONOMICA

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* (Terragno *et al.*, 2003; Acha, 2003; Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002), tribu *Salmonelleae* y se diferencia de otras enterobacterias con ayuda de reacciones bioquímicas y serológicas (ICMSF, 1999).

Este género ha sido objeto de sucesivas modificaciones en su nomenclatura y taxonomía; sin embargo, los estudios mas recientes han mostrado que está constituido por dos especies: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. A su vez, *Salmonella enterica* esta compuesta por seis subespecies: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica*

subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae* y *S. enterica* subsp. *indica* (Terragno *et al.*, 2003; Parra *et al.*, 2002; OPS/OMS, 1998; Jay, 2000).

Las subespecies de *Salmonella enterica* y la especie *Salmonella bongori* se dividen en mas de 2400 serovariedades (Terragno *et al.*, 2003; Parra *et al.*, 2002; Harrison, 2002). *S. enterica* subsp. *enterica* (subespecie I) agrupa a la mayoría de las serovariedades aisladas del hombre y de los animales de sangre caliente mientras que las subespecies restantes y *Salmonella bongori* incluyen a las de baja incidencia en patología humana y animal (Terragno *et al.*, 2003; Vadillo *et al.*, 2002).

Los distintos serotipos difieren en su virulencia para el hombre. Así, tipos tales como *S. pullorum* y *S. gallinarum* tienen escasa virulencia, mientras otros son muy patógenos (ICMSF, 1999). El número real de éstos que pueden producir enfermedad en el humano no es conocido; por ello, se acepta de modo general que todos los serotipos de *Salmonella* son potencialmente peligrosos para el hombre (ICMSF, 1999; Reynolds, 2002).

II) CLASIFICACION SEGÚN EL HUESPED

Desde el punto de vista epidemiológico, las salmonelas se pueden clasificar en tres grupos (Terragno *et al.*, 2003; Parra *et al.*, 2002; Jay, 2000):

a) Las que infectan solo al hombre: *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A y *Salmonella paratyphi* C, transmitiéndose en forma directa o indirecta de una persona a otra (Terragno *et al.*, 2003; Arias, 2003; Parra *et al.*, 2002; Acha, 2003; Harrison, 2002).

b) Las que están adaptadas al hospedador: *S. gallinarum* y *S. pullorum* a la aves, *S. dublin* al ganado vacuno, *S. abortus-ovis* a los ovinos, *S. abortus-equi* a los equinos y *S. choleraesuis* a los cerdos (Terragno *et al.*, 2003; Parra *et al.*,

2002). Aquí, los animales son sólo portadores que eliminan la bacteria de forma regular aunque en pequeña cantidad (ICMSF, 1999).

c) Las variedades no adaptadas o que no tienen preferencia por algún huésped en especial, infectando tanto al hombre como a los animales: En este grupo se encuentran la mayoría de las serovariedades responsables de la salmonelosis (Terragno *et al.*, 2003; Parra *et al.*, 2002; Jay, 2000).

III) CLASIFICACION SEGÚN LA PATOLOGÍA QUE PRODUCEN

Esta división es utilizada por la OMS en su sistema de estadísticas sanitarias (ICMSF, 1999) y agrupa a las siguientes patologías (Terragno *et al.*, 2003; ICMSF, 1999; Sanz, 1994):

a) Salmonelosis:

Es una infección entérica de origen alimentario, donde los alimentos contaminados constituyen el principal modo de transmisión (Hobbs y Roberts, 1997; Terragno *et al.*, 2003). Aunque es autolimitante, puede resultar en serias enfermedades que conducen a la muerte (Reynolds, 2002).

Las salmonelas que originan intoxicación alimenticia en el humano se clasifican en más de 200 serotipos (Hobbs y Roberts, 1997; Bennett, 1997; Prescott, 1999). *S. enteritidis* y *S. typhimurium* son los serovares más comunes en los países desarrollados y causas principales de la salmonelosis (Reynolds, 2002; Prescott, 1999; Jay, 2000; Acha, 2003).

b) Fiebre entérica:

Esta asociada a *Salmonella typhi* (fiebre tifoidea), *Salmonella paratyphi* A, *Salmonella paratyphi* C y *Salmonella paratyphi* B (fiebre paratifoidea). Esta última

serovariedad, es la única que puede afectar tanto al hombre como a los animales (ICMSF, 1999; Terragno *et al.*, 2003), por lo que se puede afirmar que las fiebres tifo-paratíficas afectan a los primates (hombre y chimpancé) prácticamente de modo exclusivo (ICMSF, 1999; Bennett, 1997).

S. typhi y *S. paratyphi* alcanzan una tasa de mortalidad 10 veces mayor que aquellas cepas causantes de salmonelosis (Reynolds, 2002) y según informes de la OMS, la relación entre los casos de fiebre tifoidea y paratifoidea es de 10:1 (Terragno *et al.*, 2003).

2.10. ENFERMEDADES DIARREICAS ASOCIADAS AL CONSUMO DE VERDURAS CRUDAS

El consumo de verduras frescas crudas ha sido señalado en algunas ocasiones como causa de diarrea en humanos (Acevedo *et al.*, 2001; Rodríguez, 2003c; Diane, 1995; ICMSF, 1981). A pesar de que la carne de res, aves y mariscos causan enfermedades con más frecuencia (Harris y Cullor, 2002) ha quedado demostrada la vulnerabilidad de las verduras (Bihn *et al.*, 1999; Chaidez, 2002; Beuchat y Ryu, 1997).

Particularmente, la lechuga, la col y otros vegetales que generalmente se consumen crudos han sido asociados con brotes epidémicos de diarrea (Monge *et al.*, 1996; Acevedo *et al.*, 2001; Arce *et al.*, 2002; ICMSF, 1981).

Entre los años 1998 y 2001, las hortalizas causaron poco menos del 5% de los 2.575 brotes de ETA registrados en las Américas (SIRVETA, 2005a). En EE.UU., desde 1987, el número de epidemias asociadas con frutas y verduras se ha duplicado, produciendo alrededor del 2 al 4% de los casos de ETA (Harris y Cullor, 2002) y vinculando su aumento con la presencia de *Salmonella* spp. o *E. coli* (Rodríguez, 2003c; Arce *et al.*, 2002).

Durante el verano, los vegetales frescos juegan un rol importante en el incremento de estas enfermedades debido a que son consumidos en mayores cantidades. En los EE.UU., dicho consumo per capita se ha incrementado en los recientes años (Beuchat y Ryu, 1997; Arce *et al.*, 2002), en el verano y también en otras estaciones debido al aumento de las importaciones (Beuchat y Ryu, 1997).

2.11. COLIBACILOSIS POR *E. coli* enterotoxigénica (ECET)

2.11.1. RESERVORIO

El hombre es el reservorio principal de la ECET (Acha, 2003; Benenson, 1997) debido a que el espectro de huésped, esta condicionado por factores de fijación específicos de especie (Shulman, 1997; Harrinson, 2002; Benenson, 1997). La fuente de infección son las heces de los enfermos y portadores (Acha, 2003).

2.11.2. PATOGENIA

La vía de transmisión de la ECET es fecal-oral (Acha, 2003; Arias, 2003) y los vehículos de infección pueden ser el agua o alimentos contaminados por heces humanas (Arias, 2003; Harrinson, 2002; Benenson, 1997; Shulman, 1997; Acha, 2003; Acuña *et al.*, 2002; Hobbs y Roberts, 1997).

La dosis infectiva en adultos oscila entre $10^6 - 10^{10}$ UFC (Arias, 2003; Harrinson, 2002; Blanco *et al.*, 2002; ICMSF, 1999; Feng y Weagant, 2002a), aunque es necesario un número menor para el establecimiento de la enfermedad en niños, ancianos y enfermos (Feng y Weagant, 2002a). Debido al nivel de inóculo infeccioso requerido para causar enfermedad, el riesgo de transmisión de persona a persona es bajo (Shulman, 1997).

El período de incubación varía de 12 – 72 horas (Prescott, 1999; Benenson, 1997; Acha, 2003; Acuña *et al.*, 2002; Hobbs y Roberts, 1997). Los microorganismos se adhieren a la mucosa del intestino delgado, se multiplican y

producen toxinas de dos tipos: Termoestable (ST) y termolábil (LT) (Rodríguez, 2003a; ICMSF, 1999; Arias, 2003; Harrinson, 2002; Shulman, 1997; Jaklik, 1994; Acuña *et al.*, 2002; Feng y Weagant, 2002a) pudiendo ambas ser producidas por una misma cepa (Hobbs y Roberts, 1997; Benenson, 1997; Shulman, 1997; Acha, 2003) y conducir a diarrea más grave (Geo, 1994; Shulman, 1997).

Las subunidades B de la LT se unen al gangliósido GM1 del borde en cepillo de las células epiteliales del intestino delgado. Luego se hidroliza la subunidad A y el fragmento A1 es facilitado de ingresar a la célula huésped y cataliza de forma enzimática la transferencia de adenosina difosfato (ADP)-ribosa a partir de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) a la subunidad reguladora de adenilciclase (Prescott, 1999; ICMSF, 1999; Shulman, 1997; Blanco *et al.*, 2002).

Ello aumenta el nivel local del monofosfato cíclico de adenosina (AMP cíclico) y este incremento ocasiona una pérdida de electrolitos y de líquido e inhibe la reabsorción de sodio desde las células (Jaklik, 1994; Geo, 1994; Prescott, 1999). La luz intestinal se distiende con el líquido y sobrevienen hipermovilidad y diarrea (Geo, 1994).

E. coli puede producir dos enterotoxinas termoestables (ST), la STa (I y II) y STb. La STa se une fuertemente a receptores intestinales glucoproteicos específicos ligados a la guanilato ciclase, activando con rapidez una guanilato ciclase particulada en las células de la mucosa intestinal (Prescott, 1999; Harrinson, 2002; Shulman, 1997; Blanco *et al.*, 2002).

Ello estimula la producción de monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) ocasionando una respuesta secretora de electrolitos y agua a la luz del intestino delgado (Prescott, 1999), principalmente por inhibición de la absorción de sodio y cloruro por la membrana con ribete en cepillo (Jaklik, 1994; Geo, 1994).

La ST tiene mayor jerarquía como factor patogénico, dado que son principalmente las cepas productoras de ST, o de LT y ST, pero no las que

producen solo LT las que se asocian con alteraciones intestinales (Acuña *et al.*, 2002).

ECET presenta además otros elementos de virulencia, tales como las fimbrias o *pili* y que son denominados “factores de colonización” (Hobbs y Roberts, 1997). Son apéndices filamentosos rígidos o flexibles que se proyectan a lo largo de toda la superficie de la bacteria, no flagelados, de naturaleza proteica, antigénicamente distintos y necesarios para que la bacteria se adhiera a las células del epitelio intestinal, colonize y elabore subsecuentemente las toxinas (Shulman, 1997; Jaklik, 1994; Geo, 1994; Acha, 2003). En el hombre se han descrito siete factores de colonización: CFA-1 y CS1-CS6 (Acha, 2003; Shulman, 1997).

Después de la infección, se adquiere inmunidad específica para un serotipo de ECET (Benenson, 1997; Geo, 1994). La toxina termolábil estimula la producción de anticuerpos neutralizantes en el suero de personas previamente infectadas (Geo, 1994); sin embargo, se necesitan múltiples infecciones con serotipos diferentes para que surja inmunidad de amplio espectro contra el agente causal (Benenson, 1997).

2.11.3. SIGNOS CLINICOS

La enfermedad varía de un cuadro leve y de corta duración, entre 2 a 5 días, (Acha, 2003; Hobbs y Roberts, 1997) a una enfermedad que puede amenazar la vida (Harrinson, 2002).

El cuadro clínico se caracteriza por la pérdida excesiva de fluídos debido a una profusa diarrea acuosa, sin sangre ni moco (Benenson, 1997; Harrinson, 2002; Acha, 2003), dolor abdominal, vómitos ocasionales, deshidratación, postración y fiebre en unos pocos casos (Arias, 2003; ICMSF, 1999; Harrinson, 2002; Benenson, 1997; Prescott, 1999; Acha, 2003; Acuña *et al.*, 2002; Hobbs y Roberts, 1997; Feng y Weagant, 2002a).

2.11.4. DIAGNÓSTICO

ECET es causa de diarrea no inflamatoria, por lo tanto es característica la ausencia de hallazgos histopatológicos en el intestino delgado así como de moco, sangre o células inflamatorias en las heces (Harrinson, 2002; Shulman, 1997; Feng y Weagant, 2002a).

En el laboratorio, ECET se identifica al demostrar el fenotipo o el genotipo de las enterotoxinas por medio de técnicas como: Inmunovaloraciones (Hobbs y Roberts, 1997) (LT) en heces o en cultivo de muestras líquidas (Shulman, 1997), técnicas inmunoenzimáticas (Arias, 2003; Acha, 2003) como ELISA (Acuña *et al.*, 2002; Feng y Weagant, 2002a) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (LT y ST) (Prescott, 1999; Acuña *et al.*, 2002; Blanco *et al.*, 2002; Feng y Weagant, 2002a).

También se pueden realizar bioensayos (Arias, 2003; Geo, 1994; Shulman, 1997), que incluyen el modelo del asa ileal aislada de conejo (LT y ST), inoculación intragástrica en ratón lactante (STa), factor de permeabilidad en piel de conejo y cambios celulares típicos en el cultivo de células (LT) (Feng y Weagant, 2002a).

Además, por medio de sondas ADN (Shulman, 1997; Arias, 2003; Prescott, 1999; Acha, 2003; Acuña *et al.*, 2002) se pueden identificar los genes LT y ST correspondientes a las toxinas, en manchas de colonias (Benenson, 1997; Feng y Weagant, 2002a).

2.11.5. TRATAMIENTO

En adultos, la diarrea suele resolverse espontáneamente en 1 a 3 días. La medida más importante es la reposición adecuada de agua y electrolitos para evitar o combatir la deshidratación (Harrinson, 2002; Prescott, 1999; Jaklik, 1994; Blanco *et al.*, 2002).

En caso de diarrea intensa o cepas resistentes, se recomienda administrar loperamida (Benenson, 1997; Harrinson, 2002), trimetoprima-sulfametoxazol por vía oral (160 a 800 mg) dos veces al día, doxiciclina vía oral (100 mg) una vez al día por cinco días (Prescott, 1999) o fluoroquinolonas (Harrinson, 2002) como ciprofloxacina, a razón de 500 mg dos veces al día o norfloxacin, 400 mg ingeridos diariamente durante cinco días (Benenson, 1997).

2.11.6. OCURRENCIA EN EL HOMBRE

La infección producida por ECET es propia de los países tropicales o en vías de desarrollo, donde las condiciones higiénico-sanitarias son deficientes (Blanco *et al.*, 2002; Feng y Weagant, 2002a). Los más afectados son los niños menores de 3 años de edad y en menor frecuencia en niños mayores, aquellos de buen estado nutricional y adultos (Benenson, 1997; Harrinson, 2002; Shulman, 1997; Acha, 2003; Acuña *et al.*, 2002; Hobbs y Roberts, 1997).

La infección también afecta a los viajeros de países industrializados que visitan países menos desarrollados, denominándose “diarrea del viajero” (Benenson, 1997; Rodríguez, 2003a; Hobbs y Roberts, 1997; Harrinson, 2002; Geo, 1994; Acha, 2003; Acuña *et al.*, 2002; Feng y Weagant, 2002a). ECET es responsable de la mayor parte de los casos de la “diarrea del viajero” no inflamatoria (25 a 75%) (Harrinson, 2002).

ECET es la causa más común de diarrea bacteriana aguda en todo el mundo, tanto en relación con la “diarrea del viajero” como con la diarrea aguda de residentes en dichas áreas (Shulman, 1997), pudiendo producir una morbilidad y mortalidad considerables si la atención sanitaria es deficiente (Harrinson, 2002).

Entre 1993 y 1997, EE.UU. registró 84 brotes debido al consumo de alimentos contaminados con *E. coli*, con un total de 3.260 casos y 8 muertes. El mayor número de brotes (25) se produjo en 1994 y 1995, mientras que en 1993 se reportó el mayor número de casos (1.340) y de muertes (5) a causa de este agente (Olsen *et al.*, 2000).

Asimismo, entre 1993 y el 2002, se registraron en las Américas 3 brotes de colibacilosis debido al consumo de vegetales. En 1996, en Cumana – Venezuela y Cipolletti – Argentina, enfermaron 25 y 48 personas, respectivamente; mientras que en el 2002, en Varadero – Cuba, 16 individuos fueron afectados. En todos los casos, ninguno de los enfermos falleció (SIRVETA, 2005b).

2.11.7. LA ENFERMEDAD EN LOS ANIMALES

Las cepas enteropatógenas de *E. coli* también ocasionan enfermedades e importantes pérdidas económicas en las explotaciones de ganado bovino, porcino, ovino, aves y conejos (ICMSF, 1999; Blanco *et al.*, 2002).

En animales domésticos, las colibacilosis son muy frecuentes, incidiendo esencialmente en animales de pocos días de edad y en recién destetados. En terneros, lechones, corderos y gazapos *E. coli* suele producir diarrea, mientras que en aves provoca fundamentalmente infecciones respiratorias (aerosaculitis) y septicemias. Además, puede causar colisepticemias en neonatos hipogamaglobulinémicos e infecciones urinarias en rumiantes, ganado porcino, perros y gatos (Blanco *et al.*, 2002).

Aunque las cepas de *E. coli* que causan infecciones en humanos y animales pueden compartir determinados factores de virulencia, en general presentan diferentes serotipos y poseen adhesinas específicas que son responsables de su especificidad de huésped. Por lo tanto, las cepas de *E. coli* patógenas para humanos no suelen producir infecciones en animales y viceversa (Blanco *et al.*, 2002).

2.11.8. CONTAMINACIÓN DE ALIMENTOS

E. coli enterotoxigénica puede llegar a los alimentos por fallas en su manejo e higiene, a través de manipuladores infectados que excretan la bacteria y los contaminan (Hobbs y Roberts, 1997).

En general, el agua, alimentos de origen animal, vegetales crudos o en ensaladas y productos lácteos como los quesos semi-blandos son vehículos frecuentes de *E. coli* (Rodríguez, 2003a; OPS/OMS, 1998).

En los EE.UU., entre los años 1993 y 1997, los principales vehículos de transmisión de *E. coli*, en orden decreciente fueron: Carne de res, ensaladas, frutas y vegetales, bebidas no lácteas, otros tipos de carnes y la leche y finalmente las ensaladas de papa y comida mexicana (Olsen *et al.*, 2000; Feng y Weagant, 2002a).

En las Américas, entre 1993 y el 2002, las hortalizas estuvieron implicadas en 3 brotes registrados de colibacilosis. En Cumana – Venezuela (1996), Varadero – Cuba (2002) y en Cipolletti – Argentina (1996), las ensaladas servidas en un restaurante y los vegetales consumidos en una vivienda en este último, estuvieron implicados en los brotes (SIRVETA, 2005b).

2.12. SALMONELOSIS Y FIEBRE ENTERICA

2.12.1. RESERVORIO

En la fiebre entérica, los principales focos de infección son los portadores fecales asintomáticos, personas con la enfermedad (infección aguda) o convalecientes (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002).

La infección se adquiere por contacto directo o consumo de agua o alimentos contaminados con las heces de estos pacientes (Harrison, 2002; ICMSF, 1999), ya sea por las manos sucias de portadores sanos que los manipulan, por contacto con moscas que transportan los gérmenes de las heces a los alimentos o a través de aguas contaminadas por aguas residuales (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002).

La salmonelas no tifoídicas o causantes de gastroenteritis, son prevalentes en el aparato digestivo del ser humano y de un gran número de animales mamíferos domésticos y salvajes, reptiles, aves e insectos (OPS/OMS, 1998; ICMSF, 1999; Terragno *et al.*, 2003; Parra *et al.*, 2002; Harrison, 2002; Acha 2003). Sin embargo, más de 200 de estos serotipos son patógenos para el hombre (Harrison, 2002).

Estas salmonelas contaminan el medio ambiente, por medio de excretores humanos y animales; y a través de las aguas superficiales, insectos, aves y roedores pueden contaminar los alimentos en su origen (OPS/OMS, 1998; ICMSF, 1999; Terragno *et al.*, 2003) como en el caso de las hortalizas (Terragno *et al.*, 2003).

Las salmonelas también pueden contaminar los alimentos y el agua, durante su manipulación por un portador que no se lavó las manos adecuadamente (Terragno *et al.*, 2003; Bennett, 1997).

La salmonelosis también se transmite por la ingestión de alimentos provenientes de animales infectados y los subproductos derivados de ellos (Terragno *et al.*, 2003; Bennett, 1997; Acha, 2003), a través de las mascotas (tortugas, iguanas y pájaros) (Terragno *et al.*, 2003) y los productos farmacéuticos de origen animal no esterilizados (Terragno *et al.*, 2003; Bennett, 1997).

2.12.2. PATOGENIA

a) Salmonelosis:

La ruta mas común en la transmisión de la salmonelosis es la fecal-oral, aunque también puede transmitirse a través de la mucosa conjuntival, las vías respiratorias superiores y las heridas (Vadillo *et al.*, 2002).

La dosis infectiva puede llegar a ser de tan sólo 10^3 UFC (Harrison, 2002; Sanz, 1994) y más frecuentemente entre 10^5 a 10^8 UFC/g de alimento (Terragno *et al.*, 2003; Sanz, 1994; Parra *et al.*, 2002; Bennett, 1997).

La infección es altamente dependiente de las susceptibilidades individuales como el estado de salud, la edad, la acidez gástrica (Reynolds, 2002; Bennett, 1997) además del serovar, el alimento envuelto y la especie (especies adaptadas al hombre poseen dosis infectantes menores que las no adaptadas) (OPS/OMS, 1998).

El período de incubación varía entre 6 a 72 horas, generalmente entre 12 a 36 horas (Terragno *et al.*, 2003; Hobbs y Roberts, 1997; Reynolds, 2002; Bennett, 1997).

La bacteria atraviesa el tubo digestivo incluyendo el medio ácido del estómago, en donde muchos de los microorganismos ingeridos son destruidos, hasta llegar al

intestino delgado. Después de alcanzarlo, las salmonelas ofrecen resistencia a una gran variedad de factores inmunitarios innatos antes de atravesar la capa mucosa (Harrison, 2002; Bennett, 1997).

Para que se produzca la infección, es necesario que los *pili* en la superficie de las salmonelas se unan a sitios receptores específicos en las células epiteliales de la mucosa intestinal (Bennett, 1997).

Los microorganismos penetran en el intestino a través de micropliegues fagocíticos o células M situadas sobre las placas de Peyer, apareciendo un infiltrado masivo de PMN en la mucosa de los intestinos delgado y grueso (Harrison, 2002).

Esta respuesta depende de la inducción de la interleucina 8 (IL-8), un potente factor quimiotáctico de los neutrófilos secretado por las células intestinales. La degranulación y liberación de sustancias tóxicas por parte de los neutrófilos lesiona la mucosa intestinal y desencadena una diarrea inflamatoria (Harrison, 2002).

En el proceso inflamatorio participan el intestino delgado y el colon, y los leucocitos PMN aparecen como un mecanismo de defensa para prevenir la infección de linfáticos (Bennett, 1997). Sin embargo, las salmonelas se multiplican en la lámina propia y ganglios linfáticos mesentéricos (OPS/OMS, 1998).

Algunas cepas de *Salmonella* secretan enterotoxinas; una de ellas termoestable, de acción rápida y la otra termolábil, de acción mas lenta, y que actúan aumentando la permeabilidad vascular (OPS/OMS, 1998; Bennett, 1997; Reynolds, 2002; Farreras, 1997).

En condiciones normales, las salmonelas pueden ingresar a las células epiteliales no fagocitarias gracias a un mecanismo conocido como *endocitosis*

mediada por las bacterias, que depende de la translocación directa de las proteínas de *Salmonella* al interior del citoplasma de la célula hospedadora por un aparato de secreción especializado (secreción de tipo III) (Harrison, 2002; Parra *et al.*, 2002; Vadillo *et al.*, 2002). Este aparato se encarga de inyectar las proteínas necesarias para interferir en la función celular (Parra *et al.*, 2002).

Como consecuencia de esta irrupción en el metabolismo, las células infectadas producen citoquinas que atraen PMNs, los que liberan prostaglandinas con acción en el metabolismo de la adenilato ciclasa, incrementando los niveles de AMPc y como consecuencia final, la interrupción de la absorción de Na⁺ y el aumento de la secreción de Cl⁻ en la célula (Parra *et al.*, 2002).

Localmente, *Salmonella* también puede originar citotoxinas que inhiben la síntesis proteica de las células intestinales y contribuyen a su necrosis (Farreras, 1997; OPS/OMS, 1998). Además, su acción expone la fibronectina (glicoproteína) subepitelial en donde la bacteria se adhiere (OPS/OMS, 1998).

Como respuesta inflamatoria local activada por prostaglandinas (Bennett, 1997; Farreras, 1997) o por la presencia de la enterotoxina, se induce la formación de AMP cíclico, lo cual provoca secreción de líquidos e iones a la luz intestinal, impidiendo su absorción (Parra *et al.*, 2002).

b) Fiebre entérica:

Se transmite por la vía fecal-oral, a través de agua o alimentos contaminados (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002; Terragno *et al.*, 2003; ICMSF, 1999). Si no se toman las debidas medidas higiénicas, es probable el contagio directo a partir de los enfermos, dado que millones de salmonelas son excretadas con las heces (Farreras, 1997; Terragno *et al.*, 2003).

Para inducir la infección se requieren inóculos de por lo menos 10^5 UFC, y la causan con regularidad (50%) los de 10^7 y 10^9 (95%) (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002; Prescott, 1999; Sanz, 1994).

El período de incubación de la fiebre tifoidea es de 1 a 2 semanas, pero puede ser más largo (ICMSF, 1999; Farreras, 1997; Prescott, 1999; Harrison, 2002) variando entre 3 y 60 días según la dosis infectante y el estado inmunitario del huésped (Farreras, 1997; Terragno *et al.*, 2003). En las fiebres paratifoideas este período suele ser más corto (1 a 10 días) y puede ser tan breve como en una salmonelosis (ICMSF, 1999).

Después de la ingestión, la parte del inóculo que sobrevive a la acidez del estómago y el efecto bactericida de la flora del intestino delgado, penetra en el organismo por los últimos 25 cm de íleon distal, donde se une a receptores específicos que existen en el 5% de las microvellosidades del ribete en cepillo (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002; Parra *et al.*, 2002).

Luego de atravesar la mucosa intestinal sin ocasionar apenas lesión epitelial ni manifestaciones clínicas (a lo sumo, algunas deposiciones diarreicas), pasan a los fagocitos mononucleares de las placas de Peyer del íleon y los ganglios linfáticos mesentéricos en donde se multiplican (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002). En este período, los pacientes están relativamente asintomáticos y presentan sólo fiebre y dolor abdominal (Harrison, 2002).

Los microorganismos vuelven a pasar a la sangre en ondas sucesivas, ocasionando una segunda fase bacteriémica prolongada y esta vez sintomática y con fiebre, debido a la liberación de interleucina 1 por parte de los fagocitos mononucleares infectados, al producirse la multiplicación de un número crítico de microorganismos en ellos (Bennett, 1997; Harrison, 2002). Así, se diseminan los gérmenes por todo el organismo (Bennett, 1997; Farreras, 1997) a través del

sistema linfático para colonizar los tejidos reticuloendoteliales (hígado, bazo, ganglios linfáticos y medula ósea) (Harrison, 2002).

La vesícula biliar generalmente se afecta de forma subclínica (Farreras, 1997). Hay reacciones inflamatorias en bazo, hígado, medula ósea, placas de Peyer, íleon terminal y piel, que consisten en infiltraciones de células mononucleares, hiperplasia y necrosis focal (Bennett, 1997; Harrison, 2002). Las acumulaciones focales de leucocitos mononucleares se denominan “nódulos de tifoidea” (Bennett, 1997).

Las manifestaciones intestinales dependen de la hiperplasia de las placas de Peyer, que al principio aparecen tumefactas y hacia el noveno día, la mucosa intestinal sobre el tejido linfoide hiperplásico se ulcera (Bennett, 1997; Farreras, 1997).

La ulceración puede erosionar varios vasos próximos y causar hemorragia. Además, la úlcera puede profundizar hasta originar una perforación intestinal, a nivel de los 24 cm finales del íleon terminal y provocar una peritonitis (Bennett, 1997; Farreras, 1997).

La curación depende de la destrucción de los microorganismos intracelulares y guarda mayor relación con el establecimiento de una inmunidad celular suficiente, que permita dicha destrucción, que con el desarrollo de anticuerpos humorales contra los antígenos de la bacteria (Farreras, 1997).

2.12.3. SIGNOS CLINICOS

a) Salmonelosis:

Es una gastroenteritis aguda caracterizada por fiebre; diarrea acuosa persistente entre 24 y 72 horas, con moco y sangre variables en volumen e

intensidad; dolores abdominales súbitos, náuseas, vómitos y cefalea (OPS/OMS, 1998; Terragno *et al.*, 2003; ICMSF, 1999; Reynolds, 2002; Parra *et al.*, 2002).

La gravedad de los síntomas varía de un ligero malestar a deshidratación grave (ICMSF, 1999) sobre todo en niños menores de un año, ancianos e inmunocomprometidos (Terragno *et al.*, 2003; ICMSF, 1999). En estos grupos susceptibles se pueden presentar complicaciones por extensión focal, fuera del tracto intestinal (ICMSF, 1999; Terragno *et al.*, 2003; Harrison, 2002) o septicemia (Terragno *et al.*, 2003; ICMSF, 1999; Reynolds, 2002; Parra *et al.*, 2002).

En niños, *Salmonella* produce cuadros de meningitis piógena y osteomielitis de origen hematógeno y en todos los grupos susceptibles puede conducir a artritis séptica en la rodilla, la cadera y el hombro. En el abdomen, se afectan típicamente el tracto hepatobiliar y el bazo, produciéndose cálculos biliares, cirrosis y colangitis crónica (Parra *et al.*, 2002).

El estado de portador temporal puede persistir varias semanas, especialmente en lactantes; comúnmente, las personas infectadas pueden excretar la bacteria por un período de tres meses (Terragno *et al.*, 2003; Benenson, 1997). Sin embargo, entre 1 a 3% de individuos, generalmente con anomalías biliares, desarrollan un estado de portador crónico asintomático con persistencia de *Salmonella* en las heces u orina por períodos mayores de un año (Parra *et al.*, 2002; Reynolds, 2002; Rodríguez, 2003b; Bennett, 1997).

b) Fiebre entérica:

En la fiebre tifoidea, el cuadro clínico evoluciona gradualmente en 1 a 4 semanas (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Reynolds, 2002), pudiendo variar debido a las complicaciones (Bennett, 1997; Farreras, 1997).

Inicialmente puede haber diarrea transitoria, escalofríos, anorexia, debilidad, dolor de garganta, mareos, mialgias y cefalea; más comúnmente subclínicos. En la

primera semana hay fiebre, tos seca (en el 60% de los casos), hábito intestinal sin alteración o estreñimiento y dolor abdominal (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002; ICMSF, 1999).

En la segunda semana persiste la fiebre, hay hepatoesplenomegalia, manchas rosadas en hombros, tórax, abdomen y a veces en las extremidades, estupor o delirio, diarrea o estreñimiento; llegando al final de la enfermedad entre la tercera y cuarta semana (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002; ICMSF, 1999).

Cerca del 5% de los pacientes sufren perforación intestinal o hemorragia al final de la segunda semana (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Reynolds, 2002; Terragno *et al.*, 2003), incluso después de algunos días de tratamiento y mejoría. La perforación intestinal se manifiesta por aumento súbito del dolor abdominal, distensión e hipersensibilidad, mientras que la hemorragia puede ser masiva o como sangre oculta en las heces (Bennett, 1997; Farreras, 1997).

Otras complicaciones son neumonía por superinfección de otras bacterias, miocarditis, colecistitis y meningitis aguda (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002; Terragno *et al.*, 2003). Por todo esto, el género *Salmonella* es uno de los principales causantes de casos mortales en razón de las complicaciones surgidas entre los pacientes afectados (OPS/OMS, 1998).

Entre el 1 a 5 % de los pacientes establecen un “estado de tolerancia” con el agente responsable y se convierten en portadores fecales crónicos asintomáticos (Farreras, 1997; Terragno *et al.*, 2003; OPS/OMS, 1998), eliminando *S. typhi* en la orina o heces durante un año (Harrison, 2002; Bennett, 1997) frecuentemente a partir de un foco en la vesícula biliar (ICMSF, 1999). Los portadores asintomáticos pueden eliminar entre 10^1 a 10^8 salmonelas/g de heces hasta por 6 meses (OPS/OMS, 1998).

Los ancianos son propensos a convertirse en portadores fecales crónicos, porque los trastornos biliares o las anomalías anatómicas les permiten alojar la infección crónica en la vesícula biliar (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002). En ocasiones los portadores pueden alojar los bacilos en el colon o el aparato urinario, siempre que hayan factores predisponentes (Farreras, 1997).

En la fiebre paratifoidea, la sintomatología es similar, aunque mucho más leve, de corta duración (Reynolds, 2002) y es menos común el estado de portador crónico (Bennett, 1997). En las infecciones por *S. paratyphi* B y *S. paratyphi* C, el cuadro clínico está dominado a menudo por la diarrea (ICMSF, 1999).

2.12.4. DIAGNÓSTICO

Las salmonelas productoras de gastroenteritis se aíslan de las heces mediante coprocultivo (Sanz, 1994; Bennett, 1997), pudiendo acelerarse su identificación mediante aglutinación, pruebas enzimáticas o a través de sondas de hibridación de ADN (Sanz, 1994).

En la fiebre tifoidea, lo habitual es el aislamiento de *S. typhi* en un hemocultivo, que resulta positivo (90%) en la mayoría de los pacientes durante la primera semana de la enfermedad (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002; Sanz, 1994; ICMSF, 1999).

Si el hemocultivo resulta negativo o si se administraron antibióticos, se puede realizar la prueba de Widal para detectar anticuerpos aglutinantes contra los antígenos somático (O) y flagelar (H) de *S. typhi*. Un título de aglutinina O de 1:80 o más, o un incremento del cuádruple apoyan el diagnóstico (Bennett, 1997; Farreras, 1997). Sin embargo, su valor es limitado por los falsos positivos en áreas endémicas y falsos negativos en algunos casos comprobados por bacteriología (Bennett, 1997; Harrison, 2002).

El diagnóstico de fiebre entérica también se basa en los cultivos positivos de heces, orina y secreciones gástricas o intestinales (Harrison, 2002) antes del tratamiento con antibióticos (Sanz, 1994; Bennett, 1997). La prueba más sensible es el cultivo de médula ósea, positiva en casi el 90% y que puede utilizarse en pacientes tratados con antibióticos (Bennett, 1997; Harrison, 2002).

2.12.5. TRATAMIENTO

a) Salmonelosis:

En personas adultas y sanas se suele resolver espontáneamente (Parra *et al.*, 2002; Harrison, 2002) y no es recomendable la antibioticoterapia (Parra *et al.*, 2002; Bennett, 1997) debido a que puede prolongar el estado de portador convaleciente (Sanz, 1994; Reynolds, 2002). En estos casos el tratamiento es sintomático y debe limitarse a rehidratación y reposición de electrolitos (Sanz, 1994; Parra *et al.*, 2002; Bennett, 1997).

En personas con enfermedad de base, niños pequeños, ancianos o en casos poco frecuentes de infección generalizada, los antibióticos de elección son las cefalosporinas (Sanz, 1994), las quinolonas (Sanz, 1994; Bennett, 1997) y el cloranfenicol. La ampicilina y amoxicilina son empleadas para el tratamiento de ocasionales portadores crónicos (Parra *et al.*, 2002; Bennett, 1997).

En los países desarrollados, las salmonelas se han hecho más resistentes a los antibióticos al adquirir factores de transferencia de resistencia, lo cual se atribuye en gran parte al uso extensivo de antimicrobianos como promotores de crecimiento en el alimento para animales de granja (Bennett, 1997; Vadillo *et al.*, 2002; Acha, 2003).

b) Fiebre entérica:

Los pacientes deshidratados, anoréxicos o con diarrea deben recibir soluciones salinas intravenosas para evitar las alteraciones electrolíticas y de ácidos y bases (Bennett, 1997; Farreras, 1997).

La tifoidea debe ser tratada con antibióticos desde el principio (Sanz, 1994). El cloranfenicol es el fármaco de elección, de 50 a 60 mg/kg/día, vía oral, cada 6 horas; reduciéndose después a la mitad hasta completar los 14 días. Este antibiótico no previene ni trata con eficacia el estado de portador crónico (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002; Parra *et al.*, 2002; Sanz, 1994).

Otros medicamentos eficaces son el trimetropin-sulfametoxazol en dosis de 160 mg - 800 mg, vía oral o intravenosa, dos veces al día durante 14 días; la ampicilina, amoxicilina, cefotaxima y ceftriaxona, éste último en niños. En casos de resistencia se puede utilizar ciprofloxacina, 750 mg, cada 12 h durante 7 a 14 días (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Sanz, 1994).

Los portadores fecales crónicos asintomáticos deben recibir ampicilina o amoxicilina, 100 mg/kg/día, durante 4 a 6 semanas; o la combinación trimetropin-sulfametoxazol y ciprofloxacina. En pacientes con cálculos biliares o colecistitis se requiere colecistectomía para anular el estado de portador (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002).

2.12.6. OCURRENCIA EN EL HOMBRE

a) Salmonelosis:

La salmonelosis es una enfermedad que produce una elevada morbilidad y una baja mortalidad; excepto en personas que viven en locales con malas condiciones higiénicas, en edades extremas como menores de cinco años (Bennett, 1997) o

ancianos y aquellos portadores de enfermedades crónicas (Terragno *et al.*, 2003; Harrison, 2002).

Estudios desarrollados en ratas sometidas a dietas hipoproteicas, demostraron que esta condición promueve la aparición de defectos inmunológicos múltiples que también contribuyen al aumento de la susceptibilidad a la infección en los grupos de riesgo (OPS/OMS, 1998).

En Israel, la salmonelosis comenzó a incrementarse desde 1980 y aumentó a un ritmo constante. Durante 1985, se produjo un brote de esta enfermedad debido a la contaminación del agua de bebida con aguas residuales y conllevó a la presentación de 77 casos y 75 hospitalizaciones (Tulchinsky *et al.*, 2000).

En 1989 ocurrió un brote en el oeste de Galilea con 1.268 casos reportados, por fallas en la cloración del agua comunal y una simultánea contaminación de la fuente de agua por el ganado. Asimismo, en 1991 se identificó a *Salmonella* en un brote con 260 casos reportados (Tulchinsky *et al.*, 2000).

En EE.UU. se registraron entre 1993 y 1997, 367 brotes con un total de 32.610 casos y 13 muertes debido al consumo de alimentos contaminados con *Salmonella*. El mayor número de brotes (90) y muertes (9) se produjo en 1995, mientras que en 1996 se reportó el mayor número de casos (12.450) a causa de este agente (Olsen *et al.*, 2000).

En España, *Salmonella* es el patógeno más habitual en las toxiinfecciones alimentarias y responsable de casi la mitad de los casos de infecciones de origen alimentario (Rodríguez, 2003b).

En las Américas, entre 1993 y el 2002 se registraron 1 brote y 1 caso de salmonelosis debido al consumo de vegetales. En el 2000, en Recife – Brasil enfermaron 104 personas; mientras que en 1998, en Palo Seco –Trinidad y

Tobago, 1 individuo fue afectado. En ambas situaciones, ninguno de los enfermos falleció (SIRVETA, 2005b).

b) Fiebre entérica:

La fiebre tifoidea casi se ha erradicado de los países desarrollados, debido a las buenas prácticas en la manipulación de alimentos, control de residuos y la mejora de las instalaciones para el tratamiento de aguas de abasto y desecho (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002; Reynolds, 2002).

Sin embargo, en la mayoría de los países en desarrollo es una enfermedad común debido a las malas condiciones higiénicas (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Harrison, 2002) y está vinculada a zonas con índices de crecimiento elevado, urbanización progresiva, tratamiento deficiente de residuos, suministro de agua limitado y sobrecarga de los sistemas sanitarios (Harrison, 2002).

La susceptibilidad a la infección es la misma en adultos y niños de todas las edades y en ambos sexos, aunque en los países en desarrollo ocurre mayormente en niños en edad escolar y adultos jóvenes. Las infecciones con *S. typhi* o *S. paratyphi* confieren cierto grado de inmunidad, sin embargo pueden ocurrir reinfecciones leves (Bennett, 1997).

2.12.7. LA ENFERMEDAD EN LOS ANIMALES

Las salmonelas tienen una gran variedad de huéspedes animales tanto domésticos como silvestres (Acha, 2003); aislándose en muchos mamíferos, aves, reptiles, anfibios, artrópodos, peces e insectos (ICMSF, 1996).

La infección puede manifestarse clínicamente o no. En la forma subclínica, el animal puede tener una infección latente y albergar el patógeno en sus ganglios, o

puede ser portador y eliminador del agente por la materia fecal, en forma transitoria, intermitente o persistente (Acha, 2003).

Salmonella spp. se mantiene en una población animal por medio de las infecciones asintomáticas y en menor proporción, de los piensos animales. Ambas procedencias mantienen infectados a los animales de abasto de un modo cíclico (Jay, 2000).

En los animales domésticos existen varias entidades clínicas bien determinadas y debidas a serotipos adaptados a la especie. Otras infecciones con manifestación clínica o sin ella se deben a serotipos de huéspedes múltiples (Acha, 2003).

Entre los organismos adaptados a hospedadores y causantes de gastroenteritis se encuentran *S. pullorum* y *S. gallinarum* en las aves de corral y *S. cholerae-suis* y *S. typhi-suis* en lechones. Los terneros son especialmente sensibles a la invasión por salmonelas durante las primeras semanas de vida; sin embargo, en el ganado vacuno adulto las manifestaciones clínicas son raras (ICMSF, 1996).

2.12.8. CONTAMINACIÓN DE ALIMENTOS

En la salmonelosis, la fuente más frecuente de infección son los alimentos contaminados en su origen (Terragno *et al.*, 2003) como aquellos que se contaminan por excretores humanos en la fase de materias primas (ICMSF, 1999; Terragno *et al.*, 2003), con menor frecuencia durante su manipulación por un portador y también mediante la transmisión de persona a persona (Terragno *et al.*, 2003).

Prácticamente, todos los alimentos de origen animal pueden ser vehículo de transmisión de salmonelas al hombre (ICMSF, 1999). Los principales alimentos involucrados son: Huevos crudos o parcialmente cocidos y sus productos; las

carnes y sus derivados (Jay, 2000; Prescott, 1999; Acha, 2003; Olsen *et al.*, 2000); leche cruda y productos lácteos; agua de bebida contaminada y mariscos (Prescott, 1999).

También se han informado brotes por el consumo de frutas, jugo de frutas y hortalizas crudas contaminadas (Terragno *et al.*, 2003; Parra *et al.*, 2002; ICMSF, 1999; OPS/OMS, 1998; Olsen *et al.*, 2000).

En EE.UU., *Salmonella* causó 357 (55%) de las 655 ETA bacterianas con etiología conocida durante 1993-1997, 55% de las cuales fueron atribuidas a *S. enteritidis*. A la vez, este serotipo fue la causa reportada más frecuente de ETA, explicando el 7% de todos los brotes y el 22% de brotes con etiología conocida, la mayoría atribuidos al consumo de huevos (Olsen *et al.*, 2000).

En las Américas entre 1993 y el 2002, se registraron 1 brote y 1 caso de salmonelosis debido al consumo de hortalizas. En Recife – Brasil (2000) y en Palo Seco – Trinidad y Tobago (1998) fueron implicados la ensalada servida en un restaurante y los vegetales consumidos en una vivienda, respectivamente (SIRVETA, 2005b).

En un estudio realizado en las ciudades de México D. F., Culiacán, Guatemala, Santo Domingo, Bogotá, Quito, Lima y La Paz, se verificó que *Salmonella* estaba presente en el 1.5% de las frutas y verduras expandidas en la vía pública. En la ciudad de Guatemala fue posible confirmar su presencia en 4 muestras, 3 de las cuales pertenecían al grupo de la frutas y verduras (OPS/OMS, 1998).

Asimismo, en Costa Rica, se incluyó a *Salmonella* spp. dentro de los patógenos aislados en alimentos en diez años de estudio, con un 2% de positividad en ensalada tipo buffet (Echandi y Antillón, 2000).

En un estudio realizado a nivel de campos de cultivo, se añadió una cepa avirulenta de *S. typhimurium* al agua de irrigación y al abono, demostrándose su persistencia por 161 días en tierras con abono contaminado sobre las cuales lechuga fue cultivada y por más de 231 días en tierras con abono contaminado sobre las cuales perejil fue cultivado (Islam *et al.*, 2004).

Asimismo, fue detectada por más de 63 días sobre lechuga y por 231 días sobre perejil cultivados en tales tierras. Al final, se concluyó que la ocurrencia de *Salmonella* sobre los vegetales y la supervivencia en tierras sobre las cuales estuvieron cultivados, fueron similares; siéndole agua y el abono, factores importantes en la contaminación de los campos y vegetales por un extendido período de tiempo (Islam *et al.*, 2004).

En nuestro país, se observó la utilización de aguas residuales del río Huatanay (Cusco) para el riego de vegetales de tallo corto que posteriormente se comercializaban en los mercados de la zona. El estudio de la contaminación por *Salmonella* en suelos de cultivo regados con aguas servidas, consistió en el análisis de muestras de agua y suelo en el momento del riego en diversos puntos, encontrándose positividad en un 20% en las muestras de agua servida usada en el riego y 14.5% en las muestras de suelo de cultivo irrigados con dichas aguas, indicando la posible presencia de la bacteria en este tipo de plantas (Flores y Huerta, 1997).

2.13. MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS ENFERMEDADES GASTROINTESTINALES PRODUCIDAS POR *E. coli* Y *Salmonella* spp.

El comportamiento y difusión de *Salmonella* al ser un microorganismo intestinal se asocia a *E. coli*, por lo que las medidas preventivas básicas a tomar son similares para ambos casos (Rodríguez, 2003b). El control se plantea de forma especial con alimentos crudos como son los vegetales (Rodríguez, 2003a).

a) A nivel nacional:

- En los países en desarrollo, realizar un manejo apropiado del agua de abasto público, la eliminación sanitaria de excretas y la mejora de las condiciones higiénicas en general (Blanco *et al.*, 2002; Bennett, 1997).

b) En los manipuladores de alimentos:

- Excluir a las personas con diarrea (Benenson, 1997) y portadores de *S. typhi* (Reynolds, 2002).
- Fomentar la higiene del área y la protección de los alimentos de la contaminación por roedores, insectos y moscas (Benenson, 1997).
- Educarlos respecto al lavado de manos con agua y jabón antes, durante y después de preparar alimentos, de manipular alimentos crudos o de cambiar de actividad, especialmente tras la utilización del aseo (Benenson, 1997; Rodríguez, 2003b; Bennett, 1997; Acha, 2003).
- Realizar el tratamiento efectivo del agua potable a través de la desinfección con cloro (Reynolds, 2002).

Respecto a la manipulación de verduras crudas, se debe tener en cuenta lo siguiente (FDA, 1998):

- Evitar el contacto entre los vegetales crudos y alimentos preparados o cocinados listos para el consumo.
- Limpiar adecuadamente el material de cocina utilizado para el procesamiento de vegetales crudos, evitando la contaminación cruzada.
- Cortar y desechar las partes dañadas o magulladas de la verdura.
- Lavar las verduras frotándolas bajo chorro de agua potable, sin usar jabón ni detergente. Las verduras de hoja, como lechugas y espinacas, se deben lavar hoja por hoja eliminando las externas.

- Para descontaminar los vegetales, el uso del cloro a una concentración de 0,2 a 5 ppm durante 5 minutos elimina el 90% de los microorganismos presentes en la superficie (Siller *et al.*, 2002; FDA, 1998; Villalobos, 2004; Beuchat y Ryu, 1997).

c) A nivel personal:

- Los viajeros deben evitar consumir agua de caño. El riesgo de infecciones gastrointestinales en el país hace recomendable no consumir o adquirir alimentos y agua de bebida en restaurantes económicos o mercados (MINSA, 2005a).
- No ingerir huevos crudos o semicocidos, para evitar el riesgo de infecciones asociadas causadas por *S. enteritidis* (Olsen *et al.*, 2000).
- No es recomendable que los viajeros a países en desarrollo empleen antibióticos profilácticos para prevenir la “diarrea del viajero”, debido a las altas tasas de resistencia (Harrinson, 2002; Jaklik, 1994).
- En la salmonelosis, utilizar antibióticos con prudencia para reducir al mínimo la aparición de nuevas cepas resistentes (Harrison, 2002).

d) Inmunización:

- En viajeros a países en desarrollo es recomendable la vacunación contra *S. typhi*. Existen 3 tipos de vacunas: Vacuna con microorganismos completos termodestruidos, vacuna atenuada y vacuna con polisacárido Vi purificado (Harrison, 2002). Sin embargo, es necesario tomar precauciones ya que sólo ofrecen una protección parcial (70%) y evitan la infección siempre que el número de gérmenes no sea muy elevado (Bennett, 1997; Farreras, 1997; Reynolds, 2002).

2.13.1. MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL EN EL CAMPO

A raíz del plan emitido por los EE.UU. para garantizar la inocuidad de frutas y hortalizas nacionales e importadas, en 1998 la FDA y CFSAN expidieron la “Guía para reducir al mínimo el riesgo microbiano en los alimentos, en el caso de frutas y vegetales frescos”, cuyos lineamientos constituyen las buenas practicas agrícolas y de manufactura adoptados por países exportadores para atender las exigencias internacionales y obtener productos de alta calidad e inocuidad (Siller *et al.*, 2002).

Las “Buenas Prácticas de Manejo Agrícola” constituyen un sistema preventivo que considera los principios y prácticas que permitan reducir los riesgos potenciales de contaminación microbiológica en las operaciones de campo; desde la siembra, el desarrollo del cultivo, la cosecha, el empaque, el transporte y la venta de los productos hortofrutícolas al consumidor final (Siller *et al.*, 2002; Villalobos, 2004).

El principio de estas prácticas es que todo lo que se pone en contacto con las hortalizas puede ocasionar su contaminación, y que la mayoría de los microorganismos patógenos provienen del hombre y de los animales (Siller *et al.*, 2002).

Es preferible prevenir la contaminación de las hortalizas que tener que actuar cuando los problemas están presentes o encontrar un método efectivo de control (Siller *et al.*, 2002) o eliminación de patógenos en los vegetales frescos que deba ser alcanzado solamente tratando el sistema entero, del campo al punto de consumo (Beuchat y Ryu, 1997; Rodríguez, 2003c).

Así, la reducción del riesgo de enfermedad asociada con estos productos puede ser realizada a través de puntos de control de la potencial contaminación en el campo (Beuchat y Ryu, 1997). Entre los puntos más importantes se incluyen los siguientes (Siller *et al.*, 2002; FDA, 1998; Villalobos, 2004):

a) EL AGUA (de uso agrícola, procesamiento, lavado y enfriamiento)

- Identificar la fuente y distribución. Supervisar los canales de riego y drenaje.
- Utilizar agua de riego libre de patógenos, estableciendo monitoreos microbiológicos continuos y evaluando su incidencia. Si se utilizan aguas superficiales para riego, analizarlas cada 4 meses para evaluar la presencia de coliformes fecales, especialmente si el agua pasa cerca de plantas de tratamiento de aguas residuales o áreas con ganado u otros animales. Usar métodos de lavado apropiados, considerando la temperatura y tratamientos alternativos en vegetales sensibles al agua.
- En el agua de lavado, refrescamiento o transporte, emplear antimicrobianos como el cloro a concentraciones de 100 - 200 ppm con un período de contacto de 5 minutos.

b) ESTIÉRCOL ANIMAL Y DESECHOS ORGÁNICOS

- Situar los lugares de almacenamiento y tratamiento del estiércol animal lejos de las áreas de producción y manipulación de vegetales. Considerar el uso de barreras u otro tipo de contención física en dichos lugares para prevenir la diseminación por el viento.
- No aplicar el estiércol animal sin tratar durante la temporada de cultivo, sino antes de plantar, evitando su aplicación en fresco sobre la superficie del terreno ya que patógenos como *E. coli* y *Salmonella* pueden estar presentes en el abono líquido y en la tierra hasta por 3 meses o más dependiendo de la temperatura y condiciones del terreno.
- Mantener los animales domésticos alejados de los terrenos durante la temporada de cultivo y asegurarse de que la materia fecal animal de terrenos adyacentes no contamine dichas áreas.

c) SALUD E HIGIENE DE LOS TRABAJADORES

- Considerar buenas prácticas de higiene, como el lavado de manos y el uso del excusado.
- Familiarizarse con los signos y síntomas típicos de las enfermedades infecciosas.

d) SANIDAD EN EL CAMPO

- Limpiar el lodo y polvo del producto vegetal antes de que salga del campo.
- Limpiar los envases o cubetas para transportar vegetales, antes de utilizarlos y descartar los envases dañados que no se puedan limpiar. Proteger de la contaminación los envases de empaque nuevos o limpios que estén almacenados.
- Limpiar las instalaciones de almacenamiento de la cosecha, antes de usarlas.

e) LIMPIEZA DE LAS INSTALACIONES DE EMPAQUE

- Establecer un sistema de control de plagas (aves, insectos y roedores) que puedan contaminar el producto en proceso.
- Antes de empacar y al final de cada día, limpiar todos los recipientes y superficies donde se trabaja. Desinfectar las superficies utilizando productos químicos y procedimientos recomendados.

f) TRANSPORTE

- Antes de la carga, asegurarse de que los camiones y envases de transporte estén limpios.
- Los trabajadores que participen en la carga y descarga de vegetales, deben adoptar buenas prácticas de higiene y limpieza durante su transporte.
- Cargar el producto de forma que el daño que reciba sea mínimo.

2.13.2. USO DEL CLORO EN LA DESCONTAMINACIÓN DE LOS VEGETALES

La contaminación bacteriana de las lechugas no se ve reducida significativamente con el lavado ordinario que aplican los consumidores, debido a la gran adherencia de los microorganismos a las estructuras del vegetal. Por ello es posible que los patógenos que se encuentran en alta concentración en las hojas, se mantengan en altos inóculos al momento de la ingestión de las mismas (Arce *et al.*, 2002).

Es por esto que se hace necesario el empleo de antimicrobianos en la descontaminación de los vegetales. A pesar de que el tratamiento con agua clorinada no puede eliminar totalmente los patógenos presentes, sí provoca una marcada reducción de los mismos (Beuchat y Ryu, 1997).

La efectividad de los agentes antimicrobianos depende de su estado químico y físico, las condiciones de tratamiento (temperatura del agua, nivel de acidez y período de contacto), la resistencia de los patógenos y la naturaleza de la superficie de las frutas y vegetales (FDA, 1998).

La actividad antimicrobial del cloro depende además, de la cantidad de cloro libre disponible (como ácido hipocloroso) en el agua en contacto con las células microbianas (Beuchat y Ryu, 1997).

Se han realizado numerosos estudios respecto a la eficacia del cloro en la desinfección de los vegetales. Se analizó el efecto de la concentración del cloro sobre microorganismos aerobios y coliformes fecales en ensaladas verdes, observándose recuentos totales marcadamente reducidos con más de 50 ppm y la ausencia de efectos substanciales en concentraciones de hasta 200 ppm (Beuchat y Ryu, 1997).

Un procedimiento estándar de lavado de hojas de lechuga en agua de caño, fue reportado de eliminar el 92.4% de la microflora e incluyendo 100 ppm de cloro libre disponible en el agua de lavado se redujo el recuento a 97.8%. El ajuste del pH a partir de 9 a 4.5-5.0 mediante ácidos, dió lugar a un aumento en el efecto microbicida (Beuchat y Ryu, 1997).

El aumento del tiempo de lavado en la solución de hipoclorito, de 5 a 30 minutos, no disminuyó más allá los niveles microbianos, mientras que el lavado extendido en agua de grifo produjo una reducción comparable al hipoclorito. La adición de 100 ppm de un surfactante (Tween 80) a una solución de lavado de hipoclorito realzó la mortalidad pero contrariamente afectó las cualidades sensoriales de la lechuga (Beuchat y Ryu, 1997).

2.14. LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS INTESTINALES Y SU MORBILIDAD - MORTALIDAD EN EL PERÚ

Los cuadros diarreicos agudos ocasionados por *E. coli* y *Salmonella* están relacionados con altas tasas de mortalidad infantil, disminución de la capacidad de aprendizaje y baja productividad en personas en edad laboral (OPS/OMS, 1998).

La Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) afecta principalmente a la población infantil de nuestro país. Se ubica entre las principales causas de morbilidad, especialmente en la población en situación de pobreza, donde se estima que los niños tienen entre 10 y 12 episodios de diarrea por año (MINSA, 2005b).

Entre 1996 y el 2003, la EDA se presentó entre el 17 y 24% de los menores de 5 años; registrándose la mayor y menor incidencia, en el 2003 y 1999, respectivamente (MINSA, 2005c). En 1995, 171 niños menores de un año (1.28%) y 82 niños de 1-4 años de edad, perdieron la vida debido a las enfermedades infecciosas intestinales (EII) (MINSA, 2003c).

En el año 2000, las EII fueron reportadas como uno de los principales grupos de causa de mortalidad infantil en el Perú, ocupando el octavo lugar dentro de los 10 más importantes (3.2 %) y afectando a 238 niños menores de un año (3.20%). En la categoría de 1-4 años de edad, 209 niños (7.9%) murieron por lo mismo, constituyendo la cuarta causa de muerte y en la categoría de 5-9 años de edad, 2.5% fallecieron, alcanzando la décima posición (MINSA, 2001).

En los años 2002, 2003 y 2004, las EII ocuparon el tercer lugar entre los principales grupos de causa de morbilidad registrada en consulta externa en el Perú (6.6%), siendo afectados un mayor porcentaje de varones en este último año (MINSA, 2005d).

En estos mismos años, las EII ocuparon el tercer (2002) y cuarto lugar (2003 y 2004) entre los principales grupos de causa de morbilidad registrada en consulta externa en la ciudad de Lima (4.0%), siendo afectados un mayor porcentaje de varones en este último año (MINSA, 2005e).

Las EII ocuparon el sétimo (2002) y octavo lugar (2003) dentro de los principales grupos de causas de morbilidad registrada en hospitalización en el Perú (2.2%) (MINSA, 2005f). A nivel de Lima, durante el 2002 las EII no se ubicaron entre los diez principales grupos; sin embargo en el 2003 ocuparon el primer lugar entre los principales grupos de causas de morbilidad registrada en hospitalización (8.2%) (MINSA, 2005g).

En 1995, se reportó un total nacional de 2.702 muertes por infecciones intestinales inespecíficas, ubicándose entonces como la tercera causa más frecuente de mortalidad (11.85%) (MINSA, 2003b). Unas 2.828 personas mayores de 65 años registradas como fallecidas, tuvieron como causa de muerte a estas enfermedades (MINSA, 2003c).

En el 2000, las EII produjeron la muerte a 1.010 (1.2%) del total de peruanos fallecidos (incluyendo menores de edad). El 1.4% de personas entre 10 y 19 años, 0.7% de individuos entre 15 y 49 años de edad y 0.8% (336) de peruanos mayores de 65 años reportados como fallecidos, debieron su muerte a estas enfermedades (MINSA, 2001).

2.15. CALIFICACIÓN SANITARIA DE LOS PRODUCTOS AGRÍCOLAS

Por los riesgos que implica para la salud pública el consumo de verduras crudas regadas con aguas residuales, se sugiere realizar el control en aquellas situaciones en que se conoce que han sido cultivadas bajo sistemas agrícolas deficientes como los sistemas de riego con estas aguas (ICMSF, 1999).

La evaluación de la calidad microbiológica de los productos agrícolas se realiza en base a los programas de muestreo diseñados por la Comisión Internacional para Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF), que recomienda en el caso de verduras frescas, la detección específica de *Escherichia coli* y *Salmonella* como indicadores de contaminación fecal en la superficie de los vegetales estableciendo lo siguiente:

Programas de muestreo y límites microbiológicos recomendados para las verduras

| PRODUCTO | ANÁLISIS | CATEGORÍA | PROGRAMA DE CLASE | n | c | Límite por g | |
|--|-------------------------|-----------|-------------------|----|---|-----------------|-----------------|
| | | | | | | m | M |
| Verduras frescas (destinadas al consumo crudo) | <i>Escherichia coli</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ³ |
| | <i>Salmonella</i> | 11 | 2 | 10 | 0 | 0 | --- |
| | Coliformes fecales | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 ² | 10 ⁴ |

Fuente: ICMSF (1981)

En nuestro país, el Ministerio de Salud a través del documento “Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano” señala (MINSA, 2003a):

Programas de muestreo y límites microbiológicos recomendados para las verduras

| PRODUCTO | ANÁLISIS | CATEGORÍA | PROGRAMA DE CLASE | n | c | Límite por g | |
|---|-------------------------|-----------|-------------------|---|---|--------------|-----------------|
| | | | | | | m | M |
| Ensaladas de vegetales crudos | <i>Escherichia coli</i> | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |
| Ensaladas de vegetales crudos/ Hortalizas refrigeradas/ Verduras frescas* | <i>Salmonella</i> | 10 | 2 | 5 | 0 | 0 | --- |
| Verduras frescas* | Coliformes fecales | 5 | 3 | 5 | 2 | 10 | 10 ² |

Fuente: MINSA (2002* o anteproyecto, 2003)

Según el documento antes mencionado, se definen los elementos constitutivos del programa de muestreo como sigue:

- **Categoría**

Se refiere al grado de riesgo que representan los microorganismos en relación a las condiciones previsibles de manipulación y consumo del alimento.

Categoría 5: Peligro indirecto y escaso para la salud. Sin modificaciones en la peligrosidad (indicadores de contaminación). Se consumirán crudas. Almacenamiento a temperatura ambiente.

Categoría 10: Peligro moderado pero directo para la salud (diseminación potencialmente extensa). Bajo condiciones que reducen el riesgo.

Categoría 11: Peligro moderado pero directo para la salud (diseminación potencialmente extensa). Bajo condiciones que no modifican el riesgo.

- **Programa de clase**

Para el análisis de *Salmonella* se adoptó un programa de dos clases mientras que para los organismos indicadores (coliformes fecales y *E. coli*) se han utilizado programas de tres clases, que consisten en aceptar un número tolerable de valores microbiológicos mayor al límite “ideal”. Esto admite que la población microbiológica se encuentre dentro de “rangos” lo cual elimina el prejuicio contrario al uso de criterios microbiológicos rígidos.

- **n**

Número de partes procedentes de un lote de muestras que deben analizarse para satisfacer un determinado programa de muestreo.

- **c**

Número máximo aceptable (o permisible) de partes que no pueden exceder a un criterio microbiológico. Es una medida del número de partes en las que la tasa microbiana es menor a m o esta comprendida entre m y M . Cuando el número sobrepasa el nivel M , el lote se rechaza.

- **m**

Número o nivel máximo de bacterias por gramo. Los valores superiores a este nivel se aceptan provisionalmente o se rechazan.

- **M**

Es el valor máximo que se usa para rechazar los alimentos de calidad aceptable provisionalmente. Solo se aplica en los programas de tres clases.

Tanto la ICMSF como el MINSA consideran a *E. coli*, *Salmonella* y adicionalmente a los coliformes fecales, como microorganismos indicadores de contaminación en verduras.

La ICMSF toma en cuenta a las verduras frescas como elemento de análisis mientras que el MINSA hizo lo mismo en el anteproyecto de la norma sanitaria, pero finalmente solo consideró a las hortalizas refrigeradas y a las ensaladas de vegetales crudos.

Respecto al análisis de *E. coli*, ambas instituciones ubican a este agente dentro de la categoría 5, en un programa de 3 clases, con 5 partes a analizarse y de las cuales 2 no pueden exceder a un criterio microbiológico.

En ambos casos, el número máximo de *E. coli* / g es 10, y los valores superiores a éste se rechazan o se aceptan provisionalmente. Sin embargo existen diferencias sobre el valor máximo para rechazar alimentos aceptables provisionalmente ya que la ICMSF establece 10^3 *E. coli* / g en verduras frescas, mientras que el MINSA acepta sólo hasta 10^2 *E. coli* / g en ensaladas de vegetales crudos.

La norma peruana tolera un número menor de microorganismos, debido al tratamiento culinario al cual son sometidas las verduras tales como lavado y desinfección, que eliminan gran parte de la carga bacteriana presente en las verduras frescas. Sin embargo, debido a que las ensaladas de vegetales crudos se consideran como platos preparados y listos para consumo, no debería permitirse la presencia de *E. coli* en este tipo de alimentos.

En el análisis de *Salmonella*, existen diferencias en la categorización debido a la naturaleza del alimento, ya que la ICMSF considera la presencia de este patógeno en verduras frescas dentro de la categoría 11 y el MINSA lo incluye en la categoría 10, para ensaladas de vegetales crudos y hortalizas refrigeradas.

La categoría 11 refiere que las condiciones normales de manipulación de las verduras frescas, no modifican la peligrosidad del microorganismo; mientras que la categoría 10 indica que las ensaladas y las hortalizas refrigeradas, están sometidas a condiciones que reducen el riesgo que representa el agente.

Ambas instituciones consideran el análisis en un programa de 2 clases (aceptable o rechazable), de otro lado, la ICMSF considera analizar 10 partes de verduras frescas, mientras que el MINSA establece un número de 5 partes de ensaladas de vegetales crudos u hortalizas refrigeradas, para satisfacer el programa de muestreo. En ambos casos, no se permite la presencia de *Salmonella* en ninguno de los alimentos mencionados.

Dado el elevado riesgo que representa *Salmonella* en un alimento, la ICMSF impone un criterio más estricto y establece un mayor número de partes a analizar. La sola presencia de la bacteria en 1 de 10 partes, determina el rechazo total del lote de muestras.

En el caso de los coliformes fecales (CF), tanto la ICMSF como el MINSA en su anteproyecto, establecen criterios de análisis para verduras frescas. En estos alimentos, ambas instituciones ubican a los microorganismos mencionados dentro de la categoría 5, en un programa de 3 clases, con 5 partes a analizarse y de las cuales 2 no pueden exceder a un criterio microbiológico.

Sin embargo existen diferencias sobre el número máximo permitido ya que la ICMSF establece 10^2 CF/ g, mientras que el MINSA acepta sólo hasta 10 CF/ g. Asimismo existe diferencia respecto al valor máximo para rechazar alimentos

aceptables provisionalmente, debido a que la ICMSF establece el valor de 10^4 CF/g, mientras que el MINSA acepta sólo hasta 10^2 CF/g.

Aunque ambos presentan la misma proporción en los rangos establecidos, el anteproyecto del MINSA, establecía un criterio más exigente, tolerando un menor número de microorganismos CF sobre las verduras frescas.

Así, considerando los rangos marcados por los límites mínimo y máximo recomendados para su calificación, se han establecido tres niveles de calidad:

- i) Aceptabilidad total, cuando las 5 unidades de muestra analizadas presentan menos de 10 *E. coli* y ausencia total de *Salmonella*.
- ii) Aceptabilidad provisional, cuando de las 5 unidades de muestra analizadas, 3 de ellas cumplen con el requisito anterior y 2 presentan valores entre 10 y 1000 (ICMSF, 1981) ó 10 y 100 (MINSA, 2003a) *E. coli* y ausencia de *Salmonella*, y
- iii) Rechazable, cuando existen mas de 1000 (ICMSF, 1981) ó 100 (MINSA, 2003a) *E. coli* por gramo de muestra, o se verifica la presencia de *Salmonella*.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE ESTUDIO

El presente estudio se realizó en un período que abarcó desde octubre del 2003 a diciembre del 2004. Se investigaron tres tipos de verduras de consumo crudo de alta demanda en nuestro medio: Lechuga (*Lactuca sativa*), col (*Brassica oleracea*) y espinaca (*Spinacea oleracea*). Los muestreos se llevaron a cabo en los cuatro principales mercados de carácter mayorista de Lima Metropolitana, denominados al azar como mercados 1, 2, 3 y 4:

- La Parada,
- Ramón Castilla,
- Ceres y
- Caquetá.

El estudio bacteriológico se realizó en el Laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la Facultad de Medicina Veterinaria de La Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en San Borja, Lima.

3.2. UNIVERSO Y TAMAÑO MUESTRAL

El tamaño de la muestra se determinó utilizando la fórmula para estimar una proporción (Daniel, 1996):

$$n = \frac{Z^2 \cdot p \cdot q}{E^2}$$

Donde:

n: Tamaño muestral.

z: 1.96 (valor al 95% de confianza).

p: Proporción hallada en estudios previos. *Salmonella* spp: 13.8%, coliformes fecales ($> 10^2$): 52% y *E. coli* Tipo I (Típico) (>10): 54% (CEPIS, 1990).

q: 1-p. *Salmonella* spp: 0.862, coliformes fecales: 0.48 y *E. coli*: 0.46.

E: 0.15 (precisión).

De esta forma, tenemos lo siguiente:

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.138)(0.862)}{(0.15)^2} = 21 \quad \text{para } Salmonella \text{ spp.}$$

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.52)(0.48)}{(0.15)^2} = 43 \quad \text{para la determinación de colif. fecales.}$$

$$n = \frac{(1.96)^2 (0.54)(0.46)}{(0.15)^2} = 43 \quad \text{para la determinación de } E. coli.$$

Para una mejor estimación, en cada mercado se analizaron 45 muestras de vegetales; de las cuales 15 fueron lechuga, 15 col y 15 espinaca. En total se analizaron 180 hortalizas.

3.3. MUESTREO Y TRANSPORTE DE MUESTRAS

El muestreo se realizó en horas de la mañana, por ser la hora mas frecuentada por los consumidores. La unidad de muestra fue una verdura representativa de cada puesto de venta, tomándose en cada puesto tres muestras, una de cada verdura en estudio.

Las muestras fueron colocadas en bolsas plásticas de primer uso, tal como son entregadas por el vendedor al consumidor, y transportadas en una caja térmica enfriada con hielo, hacia el laboratorio de Salud Pública y Salud Ambiental de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM.

3.4. ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS

En el presente estudio se llevaron a cabo las siguientes determinaciones microbiológicas (ICSMF, 1999):

- Cuantificación de coliformes fecales.
 - Detección y recuento de *Escherichia coli* Tipo I (Típico): Técnica del Número Más Probable (NMP).
- Aislamiento e identificación de *Salmonella* spp: Prueba de Ausencia/ Presencia.

3.4.1. TÉCNICA DEL NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP) PARA RECuento DE COLIFORMES

El material de laboratorio, medios de cultivo y reactivos empleados en el desarrollo del presente ensayo son los especificados en el Método 3, recomendado por la ICMSF (1999). El procedimiento se describe en el Apéndice 1.

3.4.1.1. INTERPRETACIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Coliformes fecales: Fueron considerados como positivos aquellos cultivos que, incubados a $44 \pm 0.1^{\circ}$ C resultaron positivos de gas en CLVBB a las 24 – 48 horas y a la vez produjeron indol en agua de peptona (ICMSF, 1999).

Escherichia coli: Todos los cultivos que fermentaron lactosa con producción de gas dentro de 48 horas a $44 \pm 0.1^{\circ}$ C, que aparecieron como bacilos no formadores de esporas Gram negativos y dieron patrones IMViC + + - -, fueron considerados como *Escherichia coli* Tipo 1 (Típico) (ICMSF, 1999).

En ambos casos los resultados se expresaron en NMP/g (Apéndice 3).

3.4.2. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE SALMONELAS

El material de laboratorio, medios de cultivo y reactivos empleados en el desarrollo del presente ensayo están especificados en el método recomendado por la ICMSF (1999). El procedimiento se describe en el Apéndice 2.

3.4.2.1. INTERPRETACIÓN Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Los cultivos en agar triple azúcar hierro (TSI) y agar lisina hierro (LIA) inclinados, fueron identificados según la tabla de reacciones bioquímicas para enterobacterias (Apéndice 4). Para ello, se tuvo en cuenta la siguiente simbolización (Grados, 1982):

a) TRIPLE AZUCAR HIERRO (TSI)

Este medio de color original rojo (ph 7.4), está compuesto de tres azúcares: Glucosa, lactosa y sacarosa. El hierro es el indicador que evidencia la producción de hidrogeno sulfurado (H_2S), visible por el color negro en el medio y cuya

intensidad se simboliza de 1+ a 4+, al igual que la presencia de gas, manifestada por el resquebrajamiento del medio.

La acidez se pone de manifiesto por su cambio al color amarillo y se simboliza con la letra A, mientras que la alcalinidad se manifiesta por el cambio al color grosella y se simboliza como K. Los cultivos sospechosos de ser salmonelas se manifiestan por la alcalinidad en la parte inclinada y acidez en el fondo, simbolizándose K/A, debido a que fermentan la glucosa (columna amarilla) pero no la lactosa ni la sacarosa (parte inclinada roja).

b) AGAR LISINA HIERRO (LIA)

La lisina del medio, de color original ligeramente azulado (ph 6.7), puede ser utilizada por las enterobacterias a través de los mecanismos de decarboxilación, desaminación o ser negativos frente a este aminoácido. Para diferenciar estas reacciones, este medio contiene además glucosa y el indicador azul de bromocresol.

La decarboxilación de la lisina produce alcalinidad en todo el medio, intensificando el color azulado y simbolizándose K/K. Los cultivos sospechosos de ser salmonelas presentan esta reacción denominada lisina positiva.

La desaminación empieza en la parte inclinada, variando esta porción al color rojo y el fondo del medio al color amarillo, simbolizándose R/A. Algunas veces, el medio se observa azulado en la parte inclinada y amarillo en el fondo por fermentación de la glucosa (K/A); y en otros casos puede presentarse amarillo en su totalidad (A/A), interpretándose, en todos los casos, como lisina negativa.

Los resultados se expresaron como presencia/ausencia de *Salmonella* en 25 g.

3.5. PROCESAMIENTO DE DATOS

Los datos obtenidos como resultado de las determinaciones microbiológicas fueron procesados usando medidas de tendencia central y el cálculo de porcentajes (Daniel, 1996).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. CUANTIFICACIÓN DE COLIFORMES FECALES

1.1. Presencia de coliformes fecales (NMP ≥ 3), según total y tipo de verdura

En el mercado 1, se encontró la presencia de coliformes fecales (≥ 3) en más del 50% del total de verduras analizadas y en más del 50% de cada tipo de verdura (Cuadros 1, 2 y 9). Fue la espinaca la que presentó la mayor contaminación y todas las muestras de ella presentaron algún grado de contaminación fecal. Le siguió la lechuga y luego la col (Cuadros 2 y 9).

En el mercado 2, se encontró la presencia de coliformes fecales (≥ 3) en más del 50% del total de verduras analizadas y en más del 30% de cada tipo de verdura (Cuadros 1, 2 y 9). Fue la espinaca la que presentó la mayor contaminación. Le siguió la lechuga y luego la col (Cuadros 2 y 9).

En el mercado 3, se encontró la presencia de coliformes fecales (≥ 3) en más del 50% del total de verduras analizadas y en más del 50% de cada tipo de verdura (Cuadros 1, 2 y 9). Fueron la espinaca y la lechuga las que presentaron la mayor contaminación y todas las muestras de ellas presentaron algún grado de contaminación fecal. Les siguió la col (Cuadros 2 y 9).

En el mercado 4, se encontró la presencia de coliformes fecales (≥ 3) en más del 50% del total de verduras analizadas y en más del 50% de cada tipo de verdura (Cuadros 1, 2 y 9). Fue la espinaca la que presentó la mayor contaminación y todas las muestras de ella presentaron algún grado de contaminación fecal. Le siguió la lechuga y luego la col (Cuadros 2 y 9).

En conclusión, en cada uno de los mercados se encontró la presencia de coliformes fecales (≥ 3) en más del 50% del total de verduras analizadas y en más del 30% de cada tipo de verdura. Fue la espinaca la que presentó la mayor contaminación, seguida de la lechuga y luego la col.

1.2. Presencia de coliformes fecales en verduras, según rango de NMP

Según los rangos de NMP de coliformes fecales, en el mercado 1 el 44.5% de las verduras analizadas se encontraron por debajo de 10, 33.3% entre 10 y 100, 20% entre 100 y 1100 y 2.2% en niveles mayores de 1100 (Cuadro 1).

En el mercado 2, el 42.2% de las verduras analizadas se encontraron por debajo de 10, 42.2% entre 10 y 100, 13.3% entre 100 y 1100 y 2.2% en niveles mayores de 1100 (Cuadro 1).

En el mercado 3, el 35.6% de las verduras analizadas se encontraron por debajo de 10, 46.7% entre 10 y 100, 13.3% entre 100 y 1100 y 4.4% en niveles mayores de 1100 (Cuadro 1).

En el mercado 4, el 51.1% de las verduras analizadas se encontraron por debajo de 10, 28.9% entre 10 y 100, 17.8% entre 100 y 1100 y 2.2% en niveles mayores de 1100 (Cuadro 1).

En un estudio realizado en hortalizas de consumo crudo en Costa Rica, casi el 80% de las muestras, exceptuando la lechuga, presentaron un nivel de coliformes fecales menor o igual a 1000/g (Monge *et al.*, 1996).

Sin embargo, una investigación realizada en los mercados de Lima, demostró que un 17.5% de las verduras que crecen a flor de tierra, presentaron niveles de coliformes fecales menores o iguales a 1000 y un 82.5% de ellas tuvieron niveles mayores a 1000 (Sánchez, 1988).

En el presente estudio, los bajos porcentajes de coliformes fecales en niveles mayores a 1100, podrían deberse a la utilización de agua de riego parcialmente tratada o libre de patógenos e incapaz de transportar una elevada carga bacteriana sobre la superficie de los vegetales, al uso de abono tratado o la mejora en las condiciones de manipulación y mercadeo.

En conclusión, en los mercados 1, 2 y 4, los mayores porcentajes de contaminación con coliformes fecales estuvieron por debajo de 10; mientras que en los mercados 2 y 3, los mayores porcentajes se ubicaron en el rango entre 10 y 100.

1.3. Presencia de coliformes fecales en verduras, según límites máximos recomendados

En el mercado 1, el 22.2% de las muestras analizadas excedió los límites máximos recomendados para coliformes fecales (100), según la ICMSF (Cuadro 1). Fue la espinaca la que presentó la mayor contaminación (46.7%) superior al límite. Le siguió la lechuga (13.3%) y luego la col (6.7%) (Cuadros 2 y 9). El 55.5%

de las muestras analizadas excedió los límites máximos recomendados para coliformes fecales (10), según el MINSA (Cuadro 1). Fue la espinaca la que presentó la mayor contaminación (93.4%) superior al límite. Le siguió la col (46.7%) y luego la lechuga (26.6%) (Cuadros 2 y 9).

En el mercado 2, el 15.5% de las muestras analizadas excedió los límites máximos recomendados para coliformes fecales (100), según la ICMSF (Cuadro 1). Fue la espinaca la que presentó la mayor contaminación (40%) superior al límite. Le siguió la lechuga (6.7%) y luego la col (0%) (Cuadros 2 y 9). El 57.7% de las muestras analizadas excedió los límites máximos recomendados para coliformes fecales (10), según el MINSA (Cuadro 1). Fue la espinaca la que presentó la mayor contaminación (86.7%) superior al límite. Le siguió la lechuga (60%) y luego la col (26.7%) (Cuadros 2 y 9).

En el mercado 3, el 17.7% de las muestras analizadas excedió los límites máximos recomendados para coliformes fecales (100), según la ICMSF (Cuadro 1). Fue la espinaca la que presentó la mayor contaminación (33.3%) superior al límite. Le siguió la lechuga (13.4%) y luego la col (6.7%) (Cuadros 2 y 9). El 64.4% de las muestras analizadas excedió los límites máximos recomendados para coliformes fecales (10), según el MINSA (Cuadro 1). Fueron la espinaca y la lechuga las que presentaron la mayor contaminación (80%) superior al límite. Le siguió la col (33.4%) (Cuadros 2 y 9).

En el mercado 4, el 20% de las muestras analizadas excedió los límites máximos recomendados para coliformes fecales (100), según la ICMSF (Cuadro 1). Fue la espinaca la que presentó la mayor contaminación (33.4%) superior al límite. Le siguieron la lechuga y la col (13.3% cada una) (Cuadros 2 y 9). El 48.9% de las muestras analizadas excedió los límites máximos recomendados para coliformes fecales (10), según el MINSA (Cuadro 1). Fue la espinaca la que presentó la mayor contaminación (73.4%) superior al límite. Le siguió la lechuga (46.6%) y luego la col (26.6%) (Cuadros 2 y 9).

El mayor porcentaje de verduras contaminadas con coliformes fecales, en niveles que excedieron los límites máximos recomendados por la ICMSF, se obtuvo en el mercado 1 debido, probablemente, a la falta de higiene en los puestos, deficiente estado sanitario de los embalajes y malas condiciones de exhibición, que generan la recontaminación de los productos agrícolas procedentes de los campos.

El mayor porcentaje de verduras contaminadas con coliformes fecales, en niveles que excedieron los límites máximos recomendados por el MINSA, se obtuvo en el mercado 3 debido, probablemente, a su suelo irregular y de tierra (lo cual hace que haya mas circulación de polvo y mayor contaminación), a la falta de higiene en general, y a la proximidad y cercanía de los puestos de verduras con los puestos de venta de aves, carnes, abarrotes y productos diversos que acarrearán una contaminación adicional.

En conclusión, el mercado 1 presentó el mayor porcentaje (22.2%) de verduras contaminadas con coliformes fecales, en niveles que excedieron los límites máximos recomendados según la ICMSF (100). Asimismo, el mercado 3 presentó el mayor porcentaje (64.4%) de verduras contaminadas con coliformes fecales, en niveles que excedieron los límites máximos recomendados según el MINSA (10). En todos los mercados, fue la espinaca la que presentó la mayor contaminación superior al límite, seguida en casi todos los casos de la lechuga y luego la col.

Cuadro N° 1. Coliformes fecales en verduras expendidas en mercados (lechuga, col y espinaca). Rangos según NMP.

| Valores NMP / g | Mercado 1 | | Mercado 2 | | Mercado 3 | | Mercado 4 | |
|-------------------------------|------------------|------------|------------------|------------|------------------|------------|------------------|------------|
| Coliformes fecales | N | (%) | N | (%) | N | (%) | N | (%) |
| < 3 | 13 | 28.9 | 15 | 33.3 | 7 | 15.6 | 10 | 22.2 |
| 3 – 10 | 7 | 15.6 | 4 | 8.9 | 9 | 20.0 | 13 | 28.9 |
| 10^a – 100 | 15 * | 33.3 | 19 * | 42.2 | 21 * | 46.7 | 13 * | 28.9 |
| 100^b – 1100 | 9 * | 20.0 | 6 * | 13.3 | 6 * | 13.3 | 8 * | 17.8 |
| > 1100 | 1 * | 2.2 | 1 * | 2.2 | 2 * | 4.4 | 1 * | 2.2 |
| TOTAL | 45 | 100.0 | 45 | 100.0 | 45 | 100.0 | 45 | 100.0 |

NMP: Número mas Probable

(*) Verduras potencialmente peligrosas por exceder los límites máximos sugeridos para coliformes fecales (MINSA^a – Perú, 2002) y los límites máximos recomendados en verduras frescas (ICSMF^b, 1981).

Cuadro 2. Presencia de coliformes fecales en lechuga, col y espinaca expendidas en cuatro mercados. NMP.

| Valores NMP/g | Mercado 1 | | | | | | Mercado 2 | | | | | | Mercado 3 | | | | | | Mercado 4 | | | | | |
|-------------------------|-----------|------|-----|------|----------|------|-----------|------|-----|------|----------|------|-----------|------|-----|------|----------|------|-----------|------|-----|------|----------|------|
| Coliformes fecales | Lechuga | | Col | | Espinaca | | Lechuga | | Col | | Espinaca | | Lechuga | | Col | | Espinaca | | Lechuga | | Col | | Espinaca | |
| | n | % | n | % | n | % | n | % | N | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| < 3 | 6 | 40 | 7 | 46.7 | 0 | 0 | 4 | 26.7 | 10 | 66.7 | 1 | 6.7 | 0 | 0 | 7 | 46.7 | 0 | 0 | 3 | 20 | 7 | 46.7 | 0 | 0 |
| 3 – 10 | 5 | 33.3 | 1 | 6.7 | 1 | 6.7 | 2 | 13.3 | 1 | 6.7 | 1 | 6.7 | 3 | 20 | 3 | 20 | 3 | 20 | 5 | 33.3 | 4 | 26.7 | 4 | 26.7 |
| 10 ^a – 100 | 2* | 13.3 | 6* | 40 | 7* | 46.7 | 8* | 53.3 | 4* | 26.7 | 7* | 46.7 | 10* | 66.7 | 4* | 26.7 | 7* | 46.7 | 5* | 33.3 | 2* | 13.3 | 6* | 40 |
| 100 ^b – 1100 | 2* | 13.3 | 1* | 6.7 | 6* | 40 | 1* | 6.7 | 0 | 0 | 5* | 33.3 | 1* | 6.7 | 0 | 0 | 5* | 33.3 | 2* | 13.3 | 2* | 13.3 | 4* | 26.7 |
| > 1100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1* | 6.7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1* | 6.7 | 1* | 6.7 | 1* | 6.7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1* | 6.7 |
| TOTAL | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 |

NMP: Número mas Probable

(*) Verduras potencialmente peligrosas por exceder los límites máximos sugeridos para coliformes fecales (MINSA^a – Perú, 2002) y los límites máximos recomendados en verduras frescas (ICSMF^b, 1981).

1.4. Presencia de coliformes fecales, según el tipo de verdura

La espinaca fue la verdura que más sobrepasó el límite máximo establecido por la ICMSF (100), representando el 38.3% del total de espinacas analizadas y a la vez, el 12.8% del total de verduras muestreadas. Le siguió la lechuga (11.7% del total de lechugas analizadas y 3.9% del total de verduras muestreadas) y finalmente la col (6.7% del total de coles analizadas y 2.2 % del total de verduras muestreadas) (Cuadros 3 y 4).

En el 18.9% del total de verduras muestreadas en el presente estudio, se detectó la presencia de coliformes fecales en niveles que excedieron los límites máximos recomendados según la ICMSF (100) (Cuadro 4).

De igual forma, la espinaca fue la verdura que más sobrepasó el límite máximo establecido por el MINSA (10), representando el 83.3% del total de espinacas analizadas y a la vez, el 27.8% del total de verduras muestreadas. Le siguió la lechuga (53.3% del total de lechugas analizadas y 17.8% del total de verduras muestreadas) y finalmente la col (33.3% del total de coles analizadas y 11.1 % del total de verduras muestreadas) (Cuadros 3 y 4).

En el 56.7% del total de verduras muestreadas en el presente estudio, se detectó la presencia de coliformes fecales en niveles que excedieron los límites máximos recomendados según el MINSA (10) (Cuadro 4).

En el estudio realizado en Costa Rica, los resultados coincidieron en señalar a la col como una de las verduras con menor contaminación fecal (Monge *et al.*, 1996).

La espinaca y la lechuga, fueron las verduras que más sobrepasaron los límites máximos para coliformes fecales establecidos por la ICMSF y el MINSA, debido a su alto porcentaje de humedad y a su agrupamiento en manojos (espinaca). Otros

factores como la disposición de las hojas hacia los rayos solares, que permiten desarrollar una adecuada temperatura para la multiplicación bacteriana y la superficie lisa de las hojas, que hace inevitable el contacto directo con otras verduras, condujeron a la obtención de mayores recuentos bacterianos que los existentes en la col.

De otro lado, la investigación realizada por el CEPIS concluyó que un 58% de los productos agrícolas expendidos en los mercados presentaron niveles de coliformes fecales mayores a 100 (Castro de Esparza, 1990). En el presente estudio dichos niveles alcanzaron el 18.9%; probablemente, debido a la utilización de agua de riego parcialmente tratada o libre de patógenos, al uso de abono tratado o la mejora en las condiciones de manipulación y mercadeo.

En conclusión, la espinaca fue la verdura que más sobrepasó los límites máximos para coliformes fecales establecidos por la ICMSF y el MINSA, seguida de la lechuga y finalmente la col. Asimismo, en el 18.9% y 56.7% del total de verduras muestreadas en el presente estudio, se detectó la presencia de coliformes fecales en niveles que excedieron los límites máximos recomendados según la ICMSF (100) y el MINSA (10), respectivamente.

Cuadro 3. Presencia de coliformes fecales (CF) en verduras frescas, según el tipo de verdura

| Tipo de verdura | Unidades de muestra | Nº de muestras positivas / Presencia según tipo de verdura (%) | |
|-----------------|---------------------|--|---------------------|
| | | ICMSF ^a | MINSAB ^b |
| Lechuga | 60 (100%) | 7 (11.7%) | 32 (53.3%) |
| Col | 60 (100%) | 4 (6.7%) | 20 (33.3%) |
| Espinaca | 60 (100%) | 23 (38.3%) | 50 (83.3%) |

^a: Se consideran muestras positivas aquellas cuyo NMP es mayor a 10^2 .

^b: Se consideran muestras positivas aquellas cuyo NMP es mayor a 10.

Cuadro 4. Presencia de coliformes fecales (CF) en verduras frescas, según el total de verduras analizadas

| Tipo de verdura | Unidades de muestra | Nº de muestras positivas / Presencia según total de verduras analizadas (%) | |
|-----------------|---------------------|---|---------------------|
| | | ICMSF ^a | MINSAB ^b |
| Lechuga | 60 | 7 (3.9%) | 32 (17.8%) |
| Col | 60 | 4 (2.2%) | 20 (11.1%) |
| Espinaca | 60 | 23 (12.8%) | 50 (27.8%) |
| Total | 180 (100%) | 34 (18.9%) | 102 (56.7%) |

^a: Se consideran muestras positivas aquellas cuyo NMP es mayor a 10^2 .

^b: Se consideran muestras positivas aquellas cuyo NMP es mayor a 10.

2. CUANTIFICACIÓN DE *E. coli* Tipo I (Típico)

2.1. Presencia de *E. coli* Tipo I (Típico) (NMP \geq 3), según tipo de verdura

En el mercado 1, la presencia de *E. coli* (NMP \geq 3) se detectó en más del 5% de las muestras de espinaca y en más del 10% de las muestras de col, pero en lechuga no se detectó (Cuadros 6 y 9). En los mercados 2 y 3, la presencia de *E. coli* (NMP \geq 3) no se detectó (Cuadros 5, 6 y 9). En el mercado 4, la presencia de *E. coli* (NMP \geq 3) se detectó en más del 5% de las muestras de espinaca y lechuga, respectivamente; pero en col no se detectó (Cuadros 6 y 9).

En conclusión, en el mercado 1, la presencia de *E. coli* (NMP \geq 3) se detectó en más del 5% y 10% de las muestras de espinaca y col, respectivamente; mientras que en el mercado 4, en más del 5% de las muestras de espinaca y lechuga, respectivamente.

2.2. Presencia de *E. coli* Tipo I (Típico) en verduras, según rango de NMP

Según los rangos de NMP de *E. coli*, en el mercado 1 el 93.3% de las verduras analizadas se encontraron por debajo de 3, y 6.7% entre 3 y 10 (Cuadro 5). En los mercados 2 y 3, el 100% de las verduras analizadas se encontraron por debajo de 3 (Cuadros 5, 6 y 9). En el mercado 4, el 95.6% de las verduras analizadas se encontraron por debajo de 3, 2.2% entre 3 y 10, y 2.2% entre 10 y 100 (Cuadro 5).

En un estudio realizado en verduras que crecen a flor de tierra y muestreadas en mercados, se ha reportado que un 55% presentó niveles de *E. coli* menores o iguales a 1000 y un 45% niveles mayores a 1000 (Sánchez, 1988).

De otro lado, la investigación desarrollada en Costa Rica concluyó que en casi el 80% de las hortalizas, exceptuando la lechuga, el nivel de *E. coli* fue inferior o igual a 1000/g (Monge *et al.*, 1996).

En el presente estudio, los mayores porcentajes de contaminación con *E. coli* estuvieron por debajo de 3, debido, probablemente, a la utilización de agua de riego parcialmente tratada o libre de patógenos, al uso de abono tratado o la mejora en las condiciones de manipulación y mercadeo.

En conclusión, en los cuatro mercados, los mayores porcentajes de contaminación con *E. coli* estuvieron por debajo de 3.

2.3. Presencia de *E. coli* Tipo I (Típico) en verduras, según límites máximos recomendados

En los mercados 1, 2 y 3 el 100% de las muestras analizadas se encontraron por debajo del límite máximo recomendado para *E. coli*, según la ICMSF y el MINSA (10) (Cuadros 5, 6 y 9).

En el mercado 4, el 2.2% de las muestras analizadas excedió el límite máximo recomendado para *E. coli*, según la ICMSF y el MINSA (10) (Cuadro 5 y 7). Fue la espinaca la que presentó la contaminación superior al límite (6.7%) (Cuadro 6 y 9).

En el mercado 4, la presencia de *E. coli* en niveles que excedieron el límite máximo recomendado, podría deberse a las malas condiciones higiénicas del puesto de venta, a la presencia de vectores como cucarachas, moscas o roedores, y a la omisión de adecuadas técnicas de higiene personal y manipulación por parte del vendedor.

En conclusión, en el mercado 4, el 2.2% de las muestras analizadas excedió el límite máximo recomendado para *E. coli*, según la ICMSF y el MINSA; y fue la espinaca la que presentó la contaminación superior al límite.

Cuadro N° 5. *E. coli* Tipo I (Típico) en verduras expendidas en mercados (lechuga, col y espinaca). Rangos según NMP.

| Valores NMP / g | Mercado 1 | | Mercado 2 | | Mercado 3 | | Mercado 4 | |
|-------------------------|-----------|-------|-----------|-------|-----------|-------|-----------|-------|
| <i>Escherichia coli</i> | N | (%) | N | (%) | N | (%) | N | (%) |
| < 3 | 42 | 93.3 | 45 | 100.0 | 45 | 100.0 | 43 | 95.6 |
| 3 – 10 | 3 | 6.7 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 1 | 2.2 |
| 10 ^{a,b} – 100 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 1 * | 2.2 |
| 100 – 1100 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 |
| > 1100 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 | 0 | 0.0 |
| TOTAL | 45 | 100.0 | 45 | 100.0 | 45 | 100.0 | 45 | 100.0 |

NMP: Número mas Probable

(*) Verduras potencialmente peligrosas por exceder los límites máximos sugeridos para *Escherichia coli* (MINSA^a – Perú, 2003) y los límites máximos recomendados en verduras frescas (ICSMF^b, 1981).

Cuadro 6. Presencia de *E. coli* Tipo I (Típico) en lechuga, col y espinaca expandidas en cuatro mercados. NMP.

| Valores NMP/g | Mercado 1 | | | | | | Mercado 2 | | | | | | Mercado 3 | | | | | | Mercado 4 | | | | | |
|-------------------------|-----------|-----|-----|------|----------|------|-----------|-----|-----|-----|----------|-----|-----------|-----|-----|-----|----------|-----|-----------|------|-----|-----|----------|------|
| <i>Escherichia coli</i> | Lechuga | | Col | | Espinaca | | Lechuga | | Col | | Espinaca | | Lechuga | | Col | | Espinaca | | Lechuga | | Col | | Espinaca | |
| | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| < 3 | 15 | 100 | 13 | 86.7 | 14 | 93.3 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 14 | 93.3 | 15 | 100 | 14 | 93.3 |
| 3 – 10 | 0 | 0 | 2 | 13.3 | 1 | 6.7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 6.7 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 10 ^{a,b} – 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1* | 6.7 |
| 100 – 1100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| > 1100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| TOTAL | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 | 15 | 100 |

NMP: Número mas Probable

(*) Verduras potencialmente peligrosas por exceder los límites máximos sugeridos para *Escherichia coli* (MINSA^a - Perú, 2003) y los límites máximos recomendados en verduras frescas (ICSMF^b, 1981).

2.4. Presencia de *E. coli* Tipo I (Típico), según el tipo de verdura

En el presente estudio, una muestra de espinaca sobrepasó el límite establecido por la ICMSF y el MINSA (10), representando el 1.7% del total de espinacas analizadas y a la vez, el 0.6% del total de verduras muestreadas (Cuadros 7 y 8). Adicionalmente, una muestra de lechuga, una de espinaca y dos de col, presentaron niveles de contaminación con *E. coli*, pero dentro del rango permitido (Cuadros 6 y 9).

Un estudio realizado en Buenos Aires, reportó que el porcentaje de muestras rechazables por contaminación con *E. coli* alcanzó aproximadamente un 18% de promedio anual, y que la lechuga y la espinaca se ubicaron como el segundo y cuarto tipo de verdura con mayores niveles de contaminación (Limongelli *et al.*, 1991).

De otro lado, la investigación realizada por el CEPIS, concluyó que los productos agrícolas expendidos en los mercados presentaron porcentajes positivos de *E. coli* enterotoxigénica del 27.3% (Castro de Esparza, 1990).

La escasa presencia de *E. coli* en niveles que excedieron el límite máximo recomendado, fue debido, probablemente, a la utilización de agua de riego parcialmente tratada o libre de patógenos, al uso de abono tratado o la mejora en las condiciones de manipulación y mercadeo.

En conclusión, una muestra de espinaca sobrepasó el límite máximo recomendado para *E. coli*, según la ICMSF y el MINSA; representando el 0.6% del total de verduras muestreadas.

Cuadro 7. Presencia de *E. coli* Tipo I (Típico) (NMP > 10) en verduras frescas, según el mercado de procedencia.

| Mercado de procedencia | Unidades de muestra N | Nº de muestras positivas | Presencia (%) |
|-------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|----------------------|
| Mercado 1 | 45 | 0 | 0.0 |
| Mercado 2 | 45 | 0 | 0.0 |
| Mercado 3 | 45 | 0 | 0.0 |
| Mercado 4 | 45 | 1 | 2.2 |
| Total | 180 | 1 | 0.6 |

Cuadro 8. Presencia de *E. coli* Tipo I (Típico) (NMP > 10) en verduras frescas, según el tipo de verdura y el total de verduras analizadas.

| Tipo de verdura | Unidades de muestra | Nº de muestras positivas | Presencia (%) |
|------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------|
| Lechuga | 60 | 0 | 0.0 |
| Col | 60 | 0 | 0.0 |
| Espinaca | 60 | 1 | 1.7 |
| Total | 180 | 1 | 0.6 |

Cuadro 9. Distribución porcentual de verduras según rangos de Número Más Probable (NMP) de coliformes fecales y *E. coli* tipo I (Típico)

| Mercado | Mercado 1 | | | Mercado 2 | | | Mercado 3 | | | Mercado 4 | | |
|--------------------------------|------------------|---------------|---------------|------------------|---------------|--------------|------------------|--------------|--------------|------------------|--------------|---------------|
| Valores NMP / g | L | C | E | L | C | E | L | C | E | L | C | E |
| Coliformes fecales | | | | | | | | | | | | |
| < 3 | 40% (6) | 46.7% (7) | 0 | 26.7% (4) | 66.7% (10) | 6.7% (1) | 0 | 46.7% (7) | 0 | 20% (3) | 46.7% (7) | 0 |
| 3 – 10 | 33.3% (5) | 6.7% (1) | 6.7% (1) | 13.3% (2) | 6.7% (1) | 6.7% (1) | 20% (3) | 20% (3) | 20% (3) | 33.3% (5) | 26.7% (4) | 26.7% (4) |
| 10 – 100 | 13.3% (2) | 40% (6) | 46.7% (7) | 53.3% (8) | 26.7% (4) | 46.7% (7) | 66.7% (10) | 26.7% (4) | 46.7% (7) | 33.3% (5) | 13.3% (2) | 40% (6) |
| 100 – 499 | 6.7% (1) | 0 | 40% (6) | 6.7% (1) | 0 | 26.7% (4) | 6.7% (1) | 0 | 26.7% (4) | 13.3% (2) | 13.3% (2) | 13.3% (2) |
| 500 – 1100 | 6.7% (1) | 6.7% (1) | 0 | 0 | 0 | 6.7% (1) | 0 | 0 | 6.7% (1) | 0 | 0 | 13.3% (2) |
| > 1100 | 0 | 0 | 6.7% (1) | 0 | 0 | 6.7% (1) | 6.7% (1) | 6.7% (1) | 0 | 0 | 0 | 6.7% (1) |
| <i>Escherichia coli</i> | | | | | | | | | | | | |
| < 3 | 100% (15) | 86.7% (13) | 93.3% (14) | 100% (15) | 100% (15) | 100% (15) | 100% (15) | 100% (15) | 100% (15) | 93.3% (14) | 100% (15) | 93.3% (14) |
| 3 – 10 | 0 | 13.3% (2) | 6.7% (1) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6.7% (1) | 0 | 0 |
| 10 – 100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6.7% (1) |
| 100 – 499 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 500 - 1100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| > 1100 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

L: lechuga, C: col, E: espinaca; n verduras / mercado: 15 de cada una

3. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE *Salmonella* spp

3.1. Presencia de *Salmonella* spp. en verduras, según mercado de procedencia

En el mercado 1, en el 17.8% del total de verduras analizadas y en más del 10% de cada tipo de verdura, se encontró la presencia de *Salmonella* spp. (Cuadros 10 y 11). Fue la col la que presentó la mayor contaminación (26.7%), seguida de la lechuga y la espinaca (13.3% cada una) (Cuadro 10).

En el mercado 2, en el 20% del total de verduras analizadas y en más del 5% de cada tipo de verdura, se encontró la presencia de *Salmonella* spp (Cuadros 10 y 11). Fue la espinaca la que presentó la mayor contaminación (33.3%). Le siguió la col (20%) y luego la lechuga (6.7%) (Cuadro 10).

En el mercado 3, en el 2.2% del total de verduras analizadas y en más del 5% de coles (6.7%), se encontró la presencia de *Salmonella* spp. (Cuadros 10 y 11) En lechuga y espinaca no se detectó (Cuadro 10).

En el mercado 4 no se encontró la presencia de *Salmonella* spp. (Cuadros 10 y 11).

En una investigación realizada en los mercados de Lima, *Salmonella* spp. fue aislada de una muestra de culantro, representando el 4% de las muestras tomadas en el mercado de La Parada (Núñez, 1970).

Existen varias razones que podrían explicar la mayor presencia de *Salmonella* spp en el mercado 2. Entre ellas se mencionan, el ambiente cerrado que permite la temperatura adecuada para la multiplicación de las bacterias, la humedad del

recinto, la presencia de vectores como las cucarachas, moscas y roedores y las condiciones de almacenamiento.

En conclusión, la mayor presencia de *Salmonella* spp. se encontró en el mercado 2 (20%) y fue la col la que presentó la mayor contaminación.

Cuadro 10. Determinación de *Salmonella* spp. en lechuga, col y espinaca expendidas en mercados

| Mercado de procedencia | Mercado 1 | | | Mercado 2 | | | Mercado 3 | | | Mercado 4 | | | Total |
|--|------------------|--------------|--------------|------------------|--------------|--------------|------------------|--------------|--------------|------------------|--------------|--------------|---------------|
| Tipo de muestra | L | C | E | L | C | E | L | C | E | L | C | E | |
| n de muestras bioquímicamente positivas | 06 | 06 | 04 | 02 | 05 | 06 | 01 | 03 | 01 | 0 | 02 | 0 | 36 |
| n de muestras serológicamente positivas | 02 | 04 | 02 | 01 | 03 | 05 | 0 | 01 | 0 | - | 0 | - | 18 |
| n de muestras positivas a <i>Salmonella</i> spp (%) | 2 (13.3%) | 4 (26.7%) | 2 (13.3%) | 1 (6.7%) | 3 (20%) | 5 (33.3%) | 0 | 1 (6.7%) | 0 | 0 | 0 | 0 | 18 (10%) |
| Total de muestras analizadas | 15 (100%) | 15 (100%) | 15 (100%) | 15 (100%) | 15 (100%) | 15 (100%) | 15 (100%) | 15 (100%) | 15 (100%) | 15 (100%) | 15 (100%) | 15 (100%) | 180 (100%) |

L: Lechuga, C: Col, E: Espinaca

Cuadro 11. Aislamiento de *Salmonella* spp. en verduras frescas, según mercado de procedencia.

| Mercado de procedencia | Unidades de muestra N | Nº muestras positivas a <i>Salmonella</i> spp. | % muestras positivas a <i>Salmonella</i> spp. |
|-------------------------------|----------------------------------|---|--|
| Mercado 1 | 45 | 08 | 17.8 |
| Mercado 2 | 45 | 09 | 20 |
| Mercado 3 | 45 | 01 | 2.2 |
| Mercado 4 | 45 | 0 | 0 |
| Total | 180 | 18 | 10 |

3.2. Presencia de *Salmonella* spp. según el tipo de verdura

En la presente investigación, la col fue la verdura más contaminada con *Salmonella* spp., alcanzando el 13.3% del total de coles analizadas y a la vez, el 4.4% del total de verduras muestreadas. Le siguió la espinaca (11.7% del total de espinacas analizadas y 3.9% del total de verduras muestreadas) y finalmente la lechuga (5% del total de lechugas analizadas y 1.7% del total de verduras muestreadas) (Cuadros 12 y 13).

De manera general, la presencia de *Salmonella* spp. fue detectada en el 10% del total de verduras muestreadas en el presente estudio (Cuadro 13).

Salmonella es una bacteria poco resistente a ciertas condiciones ambientales, como la intensa luz solar, la desecación y las altas temperaturas (Rodríguez, 2003b). Sin embargo, la col, al poseer áreas más húmedas y protegidas de la desecación y de los rayos directos del sol, permite que la bacteria encuentre las condiciones necesarias para sobrevivir mucho tiempo sobre su superficie.

De otro lado, en un estudio desarrollado en los mercados de Lima, *Salmonella* fue aislada en el 0.8% del total de muestras (Núñez, 1970); mientras que en el Mercado Central de Buenos Aires, la presencia de esta bacteria alcanzó aproximadamente un 0.4% de promedio anual (Limongelli *et al.*, 1991).

La investigación realizada por el CEPIS concluyó que los productos agrícolas expendidos en los mercados presentaron porcentajes positivos de *Salmonella* del 13.8%, y se atribuyó este valor a la recontaminación durante el manipuleo de los productos entre el campo y los mercados (Castro de Esparza, 1990). La similitud del porcentaje de aislamiento encontrado en el presente estudio, permite deducir que las prácticas de manejo después de la cosecha no han sufrido mayores

alteraciones, y que continúan siendo deficientes respecto a la calidad sanitaria de los productos agrícolas.

En conclusión, la col fue la verdura más contaminada con *Salmonella* spp., seguida de la espinaca y finalmente la lechuga. Asimismo, su presencia fue detectada en el 10% de las verduras muestreadas en el presente estudio.

Cuadro 12. Presencia de *Salmonella* spp. en verduras frescas, según el tipo de verdura

| Tipo de verdura | Unidades de muestra | Nº de muestras positivas / Presencia según tipo de verdura (%) |
|------------------------|----------------------------|---|
| Lechuga | 60 (100%) | 3 (5%) |
| Col | 60 (100%) | 8 (13.3%) |
| Espinaca | 60 (100%) | 7 (11.7%) |

Cuadro 13. Presencia de *Salmonella* spp. en verduras frescas, según el total de verduras analizadas

| Tipo de verdura | Unidades de muestra | Nº de muestras positivas / Presencia según total de verduras analizadas (%) |
|------------------------|----------------------------|--|
| Lechuga | 60 | 3 (1.7%) |
| Col | 60 | 8 (4.4%) |
| Espinaca | 60 | 7 (3.9%) |
| Total | 180 (100%) | 18 (10%) |

4. CALIFICACION SANITARIA DE LECHUGA, COL Y ESPINACA EXPENDIDAS EN CUATRO MERCADOS DE LIMA METROPOLITANA

En el mercado 1, la col y la espinaca fueron las verduras que obtuvieron el mayor porcentaje de aceptabilidad total; mientras que la lechuga obtuvo el mayor porcentaje de calificación rechazable.

En el mercado 2, la lechuga fue la verdura que obtuvo el mayor porcentaje de aceptabilidad total; mientras que la espinaca y la col obtuvieron el mayor porcentaje de calificación rechazable.

En el mercado 3, la lechuga y la espinaca fueron las verduras que obtuvieron el mayor porcentaje de aceptabilidad total; mientras que la col obtuvo el mayor porcentaje de calificación rechazable.

En el mercado 4, la lechuga y la col fueron las verduras que obtuvieron el mayor porcentaje de aceptabilidad total; mientras que la espinaca obtuvo la calificación de aceptable provisionalmente. Ninguna de ellas se encontró como rechazable.

A nivel de mercados, se puede concluir que los mercados 3 y 4 fueron los que presentaron las verduras con el mayor porcentaje de aceptabilidad total; mientras que el mercado 2 obtuvo el mayor porcentaje de verduras con la calificación de rechazable. El mercado 4 fue el único que presentó un porcentaje de verduras con la calificación de aceptabilidad provisional.

Figura 1. CALIFICACIÓN SANITARIA DE TRES VERDURAS EXPENDIDAS EN EL MERCADO 1

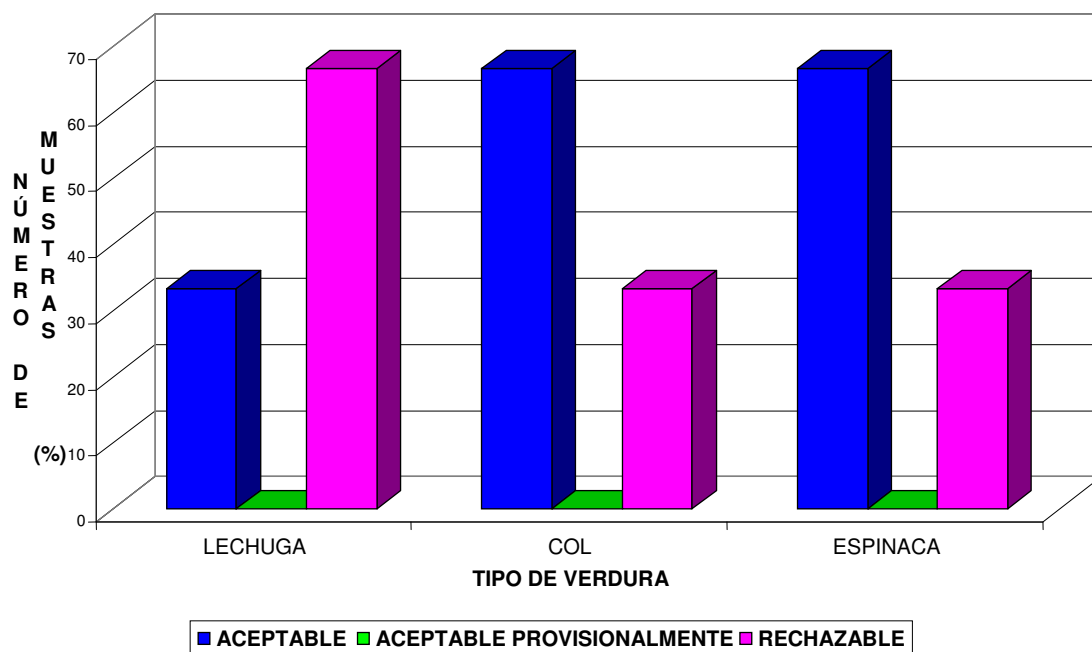


Figura 2. CALIFICACIÓN SANITARIA DE TRES VERDURAS EXPENDIDAS EN EL MERCADO 2

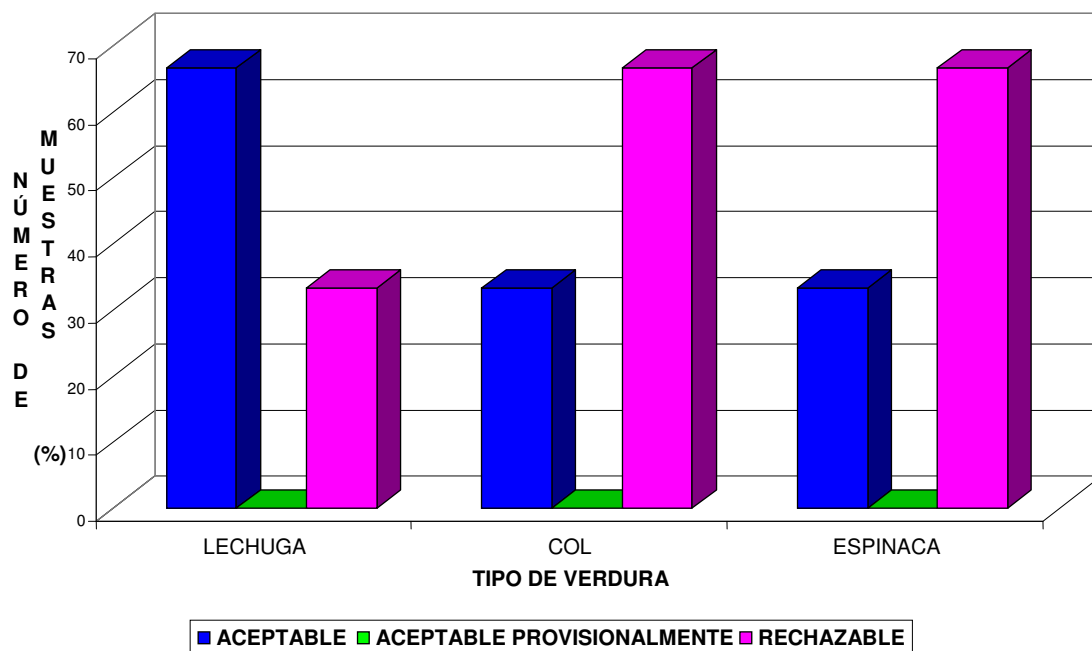


Figura 3. CALIFICACIÓN SANITARIA DE TRES VERDURAS EXPENDIDAS EN EL MERCADO 3

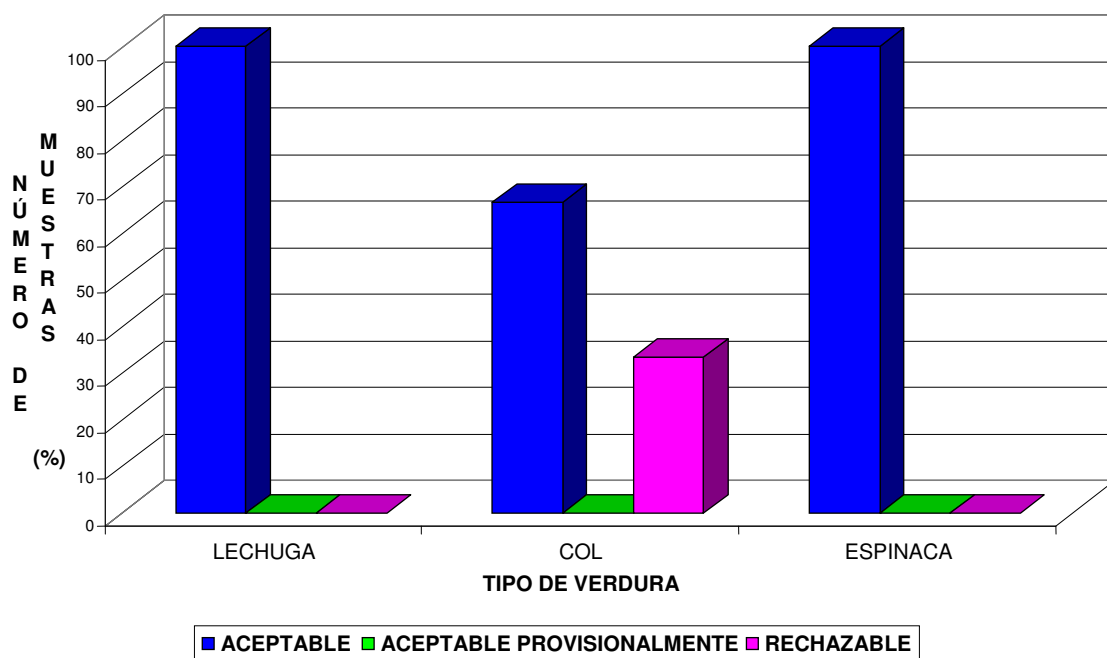
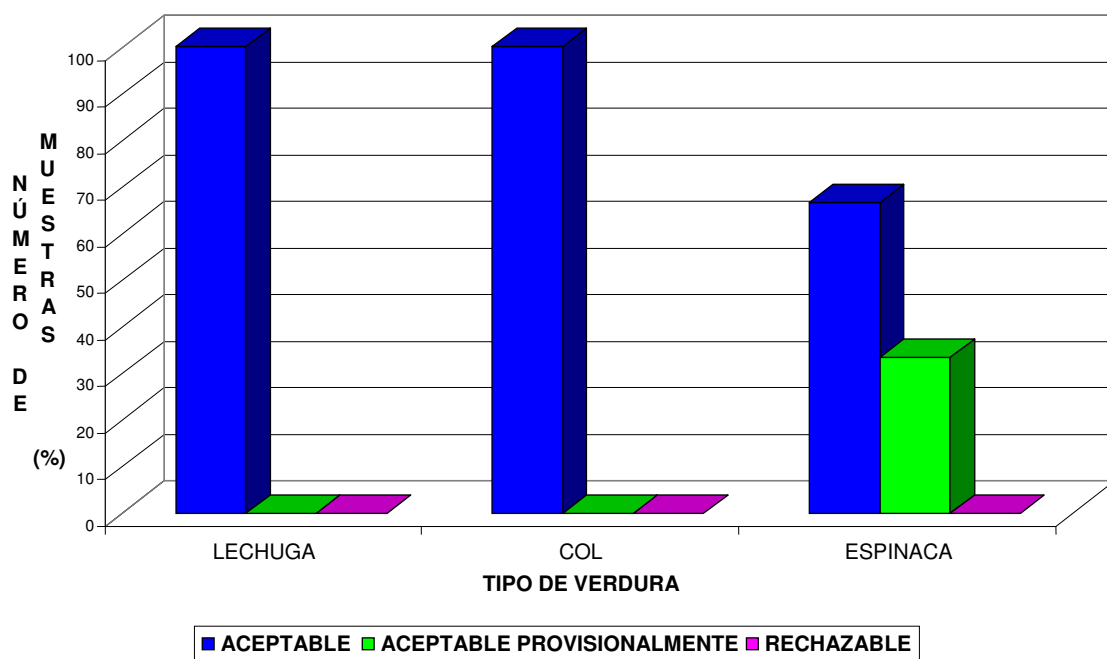
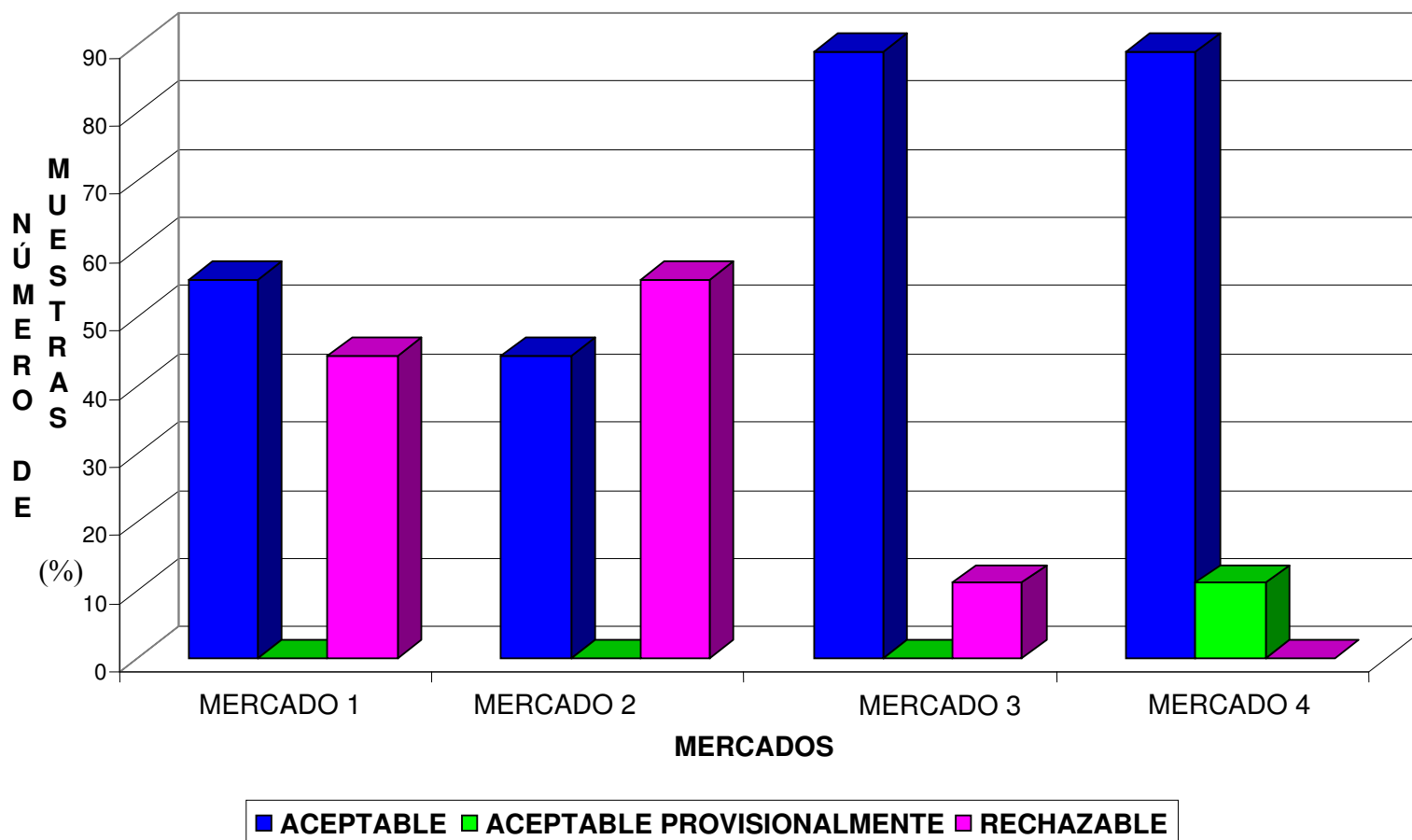


Figura 4. CALIFICACIÓN SANITARIA DE TRES VERDURAS EXPENDIDAS EN EL MERCADO 4



**Figura 5. CALIFICACIÓN SANITARIA DE TRES VERDURAS EXPENDIDAS EN
4 MERCADOS DE LIMA METROPOLITANA**



V. CONCLUSIONES

Luego de realizar el presente estudio cuya finalidad fue analizar el grado de contaminación fecal mediante la determinación de coliformes fecales y *E. coli* Tipo I (Típico), así como evaluar la presencia de *Salmonella*, en tres de las verduras de mayor consumo crudo en nuestro medio, es decir la lechuga (*Lactuca sativa*), la col (*Brassica oleracea*) y la espinaca (*Spinacea oleracea*), al momento de ser expandidas en los mercados mayoristas más importantes (4) de Lima Metropolitana y adquiridas por el consumidor, se llegó a las siguientes conclusiones:

- 1) Los mercados 1 y 3 presentaron los mayores porcentajes (22.2% y 64.4%) de verduras contaminadas con coliformes fecales, en niveles que excedieron los límites máximos recomendados según la ICMSF (100) y el MINSA (10), respectivamente.
- 2) La espinaca fue la verdura que más excedió los límites máximos recomendados para coliformes fecales establecidos por la ICMSF y el MINSA, seguida de la lechuga y finalmente la col.

- 3) En el 18.9% y 56.7% del total de verduras muestreadas en el presente estudio, se detectó la presencia de coliformes fecales en niveles que excedieron los límites máximos recomendados según la ICMSF (100) y el MINSA (10), respectivamente.
- 4) El mercado 4 presentó un 2.2% de verduras contaminadas con *E. coli* Tipo I (Típico) en niveles que excedieron el límite máximo recomendado según la ICMSF y el MINSA (10). Dicho porcentaje correspondió a una muestra de espinaca.
- 5) En el 0.6% del total de verduras muestreadas en el presente estudio, se detectó la presencia de *E. coli* Tipo I (Típico) en niveles que excedieron el límite máximo recomendado según la ICMSF y el MINSA (10).
- 6) El mercado 2 presentó el mayor porcentaje de verduras contaminadas con *Salmonella* spp (20%).
- 7) La verdura más contaminada con *Salmonella* spp. fue la col, seguida de la espinaca y finalmente la lechuga.
- 8) El 10% del total de verduras muestreadas en el presente estudio estuvieron contaminadas con *Salmonella* spp.
- 9) Los mercados 3 y 4 fueron los que presentaron las verduras con el mayor porcentaje de aceptabilidad total; mientras que el mercado 2 obtuvo el mayor porcentaje de verduras con la calificación de rechazable. El mercado 4 fue el único que presentó un porcentaje de verduras con la calificación de aceptabilidad provisional.

VI. RECOMENDACIONES

- 1) Realizar un efectivo lavado y desinfección de las verduras frescas para consumo crudo, evitando la transmisión de microorganismos patógenos.
- 2) Supervisar el desarrollo de adecuadas prácticas de manipulación y expendio de verduras, especialmente de consumo crudo, en los centros de abasto.

VII. LITERATURA CITADA

ACEVEDO, L.; MENDOZA, C. y OYON, R. (2001). Coliformes totales, fecales y algunas enterobacterias, *Staphylococcus* sp. y hongos en ensaladas para perros calientes expendidas en la ciudad de Maracay, Venezuela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición 51(4).

ACHA, P. (2003). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y animales. Publicación Científica y Técnica N° 570. 3ª ed. p 76-84. OPS. Washington.

ACUÑA, A.; ALFONSO, A.; ALGORTA, G. (2002). *Escherichia coli*. Enfermedades transmitidas por alimentos en Uruguay. OPS. Montevideo. Disponible en: www.ops.org.uy/pdf/coli.pdf

ARCE, G.; AVALOS, M.; GIUSTI, S.; *et al.* (2002). Consumo de vegetales crudos en la ciudad de Corrientes (Argentina) en relación con las enfermedades transmitidas por alimentos. Revista de Postrado de la VI Cátedra de Medicina 115: 10-11.

ARIAS, I. (2003). Guía de procedimientos de laboratorio para diagnóstico de *Salmonella*, *Shigella* y otros enteropatógenos bacterianos. Publicación del Laboratorio Nacional de Referencia de Enteropatógenos - Instituto Nacional de Salud del Perú. 33 p.

BENENSON, A. (1997). Manual para el control de las enfermedades transmisibles. Publicación Científica N° 564. 16ª ed. p 83-85. OPS. Washington.

BENNETT, J.; PLUM, F. (1997). Tratado de medicina interna. Vol. I. 20ª ed. Interamericana McGraw-Hill. México D. F.

BEUCHAT, L y RYU, JH. (1997). Produce handling and processing practices. *Emerging Infectious Diseases* 3 (4). Disponible en: www.cdc.gov/ncidod/eid/vol3no4/beuchat.htm

BIHN, E.; GRAVANI, R.; HAWKES, J. *et al.* (1999). Reduzca la contaminación microbiana con buenas prácticas agrícolas. Publicación del Programa “Good Agricultural Practices Program” de la Universidad de Cornell, EE.UU.

BLANCO, J.; BLANCO, M.; BLANCO, J. *et al.* (2002). *Escherichia coli* patógeno para seres humanos y animales. Publicación del Laboratorio de Referencia de *E. coli* de la Universidad de Santiago de Compostela. Lugo, España. Disponible en: www.lugo.usc.es/~ecoli/E.coli2.html

CASTRO DE ESPARZA, ML. (1990). Evaluación de riesgos para la salud por el uso de aguas residuales en agricultura: Aspectos microbiológicos. Resumen Ejecutivo. Vol I. Publicación del Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS). Lima.

CASTRO DE ESPARZA, ML. (1991). Programa de muestreo y medición de *Salmonella* y *E. coli* en verduras mediante enjuague de su superficie. Publicación del Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (CEPIS). Lima. 4 p.

CHAIDEZ, C. (2002). Inocuidad de frutas y hortalizas frescas: Efectos del agua contaminada. Agua Latinoamérica 2 (3). Disponible en: www.agualatinoamerica.com/docs/PDF/5-6-02quiros.pdf

CHILMAZA, L. y TORRES, Y. (1992). *Salmonella* en alimentos: Un problema de técnicas para su aislamiento. Boletín de Lima. 14 (79): 11-13.

CREMONA, MC. (2001). ¿Qué sucede con las verduras, hortalizas y frutas en los comercios?. FabalInforma: Publicación de la Fundación Bioquímica Argentina (FABA) 351. Disponible en: www.fbpba.org.ar/fabainforma/351/procal01.html

DANIEL, W. (1996). Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. 5ª ed. Limusa. México D. F. 878p.

DIANE, R. (1995). Microbiología práctica de alimentos. 2ª ed. Acribia. Zaragoza.

ECHANDI, ML. y ANTILLON, F. (2000). Contaminación microbiológica de los alimentos en Costa Rica: Una revisión de 10 años. Revista Biomédica 11(2): 113-122. Disponible en: www.uady.mx/~biomedic/rb001125.pdf

EMPRESA DE MERCADOS MAYORISTAS S.A. (EMMSA). (2005). Situación actual del comercio mayorista de hortalizas y frutas en Lima Metropolitana. En: Proyecto Gran Mercado Mayorista de Lima. Disponible en: www.emmsa.com.pe

FARRERAS, P. (1997). Medicina interna. 13ª ed. Interamericana McGraw-Hill. Madrid.

FASCIOLO, G.; GABRIEL, E.; MECA, M. *et al.* (1998). Riego con efluentes tratados: Aceptabilidad sanitaria para un cultivo de ajo. Memorias del XXVII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Brasil.

FENG, P.; WEAGANT, S. (2002a). Diarrheagenic *Escherichia coli*. En: Bacteriological Analytical Manual on-line. 8ª Ed. Disponible en: www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html

FENG, P.; WEAGANT, S. (2002b). Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. En: Bacteriological Analytical Manual on-line. 8ª Ed. Disponible en: www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html

FLORES, D. y HUERTA, M. (1997). Contaminación por *Salmonella* en suelos de cultivo regados con aguas servidas. Memorias del I Congreso Peruano de Ecología. Lima.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION U. S. (FDA). (1998). Guía para reducir al mínimo el riesgo microbiano en los alimentos, en el caso de frutas y vegetales frescos. Publicación del Dpto. de Agricultura de los Estados Unidos. 74 p. Disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/sprodgui.html>

GARCÍA, R.; CHÁVEZ, J.; MEJÍA, A. *et al.* (2002). Microbiological determinations of some vegetables from the Xochimilco zone in Mexico City. Revista Latinoamericana de Microbiología 44 (1): 24-30.

GEO, F. (1994). Microbiología médica. 16ª ed. Manual Moderno. México D. F.

GRADOS, O. (1982). Guía para el aislamiento y vigilancia de *Salmonella* y *Shigella*. Publicación del Laboratorio Nacional de Referencia de Enteropatógenos - Instituto Nacional de Salud del Perú. 54 p.

HARRINSON, T. (2002). Principios de medicina interna I. 15^a ed. p 1126-1130. Interamericana Mc-GrawHill. Madrid.

HARRIS, L. y CULLOR, J. (2002). Recomendaciones para mantener los alimentos en buen estado durante el verano. Publicación de la División de Agricultura y Recursos Naturales (ANR) de la Universidad de California, EE.UU. Disponible en: www.ucanr.org/spanish/spstories/alimentos.shtml

HOBBS, B. y ROBERTS, D. (1997). Higiene y toxicología de los alimentos. 3^a Ed. Acribia. Zaragoza.

INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA E INFORMÁTICA (INEI). (1997). Directorio Nacional de Mercados 1996. Lima.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF) (1981). Microorganismos de los alimentos II: Métodos de muestreo para análisis microbiológicos. Acribia. Zaragoza. 215 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF) (1996). Microbiología de los alimentos: Características de los patógenos microbianos. Acribia. Zaragoza. 606 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF) (1999). Microorganismos de los alimentos I: Su significado y métodos de enumeración. 2^a Ed. Acribia. Zaragoza. 439 p.

ISLAM, M.; MORGAN, J.; DOYLE, MP. *et al.* (2004). Persistence of *Salmonella enterica* serovar Thyphimurium on lettuce and parsley and in soils on which they were grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. Foodborne Pathogens & Disease 1(1): 27-35.

JAKLIK, W. (1994). Microbiología. p 744-750. Panamericana. Buenos Aires.

JAY, J. (2000). Microbiología moderna de los alimentos. 4^a ed. Acribia. Zaragoza.

LIMONGELLI, JC.; RONDINONE, MC.; FERNANDEZ J. (1991). Impacto de la contaminación en la calidad de los productos vegetales. Publicación del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Buenos Aires. 183-206.

MATOS, J y MATOS, R. (1990). Aguas residuales, agricultura y alimentación en la gran Lima. 1^a Ed. p 145-155. Propaceb. Lima.

MONGE, R.; CHINCHILLA, M.; REYES, L. (1996). Presencia de parásitos y bacterias intestinales en hortalizas que se consumen crudas en Costa Rica. Revista de Biología Tropical 44 (2): 369-375. Disponible en: www.ots.duke.edu/tropibiojnl/claris/44-2/!MONGE~1.HTM

NUÑEZ, A. (1970). Estudio del contenido bacteriano de algunas verduras de consumo en Lima. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Medicina Veterinaria, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 50 p.

OLSEN, S.; MACKINON, L.; GOULDIN, J. *et al.* (2000). Surveillance for foodborne disease outbreaks - United States: 1993 - 1997. Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) Surveillance Summaries 49 (1): 1-51. Disponible en: <http://www.cdc.gov/epo/mmwr/preview/mmwrhtml/ss4901a1.htm>

OPS/OMS (1998). Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la vía pública, en ciudades de América Latina y características socio-económicas de sus vendedores y consumidores.

PARRA, M.; DURANGO, J.; MATTAR, S. (2002). Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. Publicación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Córdoba, Montería-Colombia 7(2): 187-200.

PERÚ, MINISTERIO DE AGRICULTURA (MINAG). (2003). Volúmenes de comercialización y precios de principales productos agropecuarios en Lima Metropolitana y otras ciudades del país: 1999. Of. de Información Agraria. 290 p.

PERÚ, MINISTERIO DE AGRICULTURA (MINAG). (2005). Producción agropecuaria según subsectores y principales productos, período enero – diciembre 2001-2002. Disponible en: www.minag.gob.pe/info_agri/pagro_0212.shtml

PERÚ, MINISTERIO DE SALUD (MINSA). (2001). Informe Estadístico de Defunción: 2000. Oficina de Estadística e Informática. Disponible en: www.minsa.gob.pe

PERÚ, MINISTERIO DE SALUD (MINSA). (2003a). Norma Sanitaria “Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano”. Diario Oficial “El Peruano” 28/06: 246849 – 246862.

PERÚ, MINISTERIO DE SALUD (MINSA). (2003b). Perfil de Mortalidad a Nivel Nacional: 1995. Oficina de Estadística e Informática. Disponible en: www.minsa.gob.pe

PERÚ, MINISTERIO DE SALUD (MINSA). (2003c). Perfil de Mortalidad por Estratos Poblacionales: 1995. Oficina de Estadística e Informática. Disponible en: www.minsa.gob.pe

PERÚ, MINISTERIO DE SALUD (MINSA). (2005a). Información para viajeros. Disponible en: www.minsa.gob.pe

PERÚ, MINISTERIO DE SALUD (MINSA). (2005b). Morbilidad en niños. Disponible en: www.minsa.gob.pe

PERÚ, MINISTERIO DE SALUD (MINSA). (2005c). Casos y tasas de enfermedad diarreica aguda (EDA) en menores de cinco años: 1996 -2003. Dirección General de Salud de las Personas. Oficina de Estadística e Informática. Disponible en: www.minsa.gob.pe

PERÚ, MINISTERIO DE SALUD (MINSA). (2005d). Principales grupos de causas de morbilidad registrada en consulta externa en el Perú: 2002, 2003, 2004. Registro diario de actividad de salud. Oficina de Estadística e Informática. Disponible en: www.minsa.gob.pe

PERÚ, MINISTERIO DE SALUD (MINSA). (2005e). Principales grupos de causas de morbilidad registrada en consulta externa en la ciudad de Lima: 2002, 2003, 2004. Registro diario de actividad de salud. Oficina de Estadística e Informática. Disponible en: www.minsa.gob.pe

PERÚ, MINISTERIO DE SALUD (MINSA). (2005f). Principales grupos de causas de morbilidad registrada en hospitalización en el Perú: 2002, 2003. Relación de pacientes hospitalizados enviados por los estados de salud. Oficina de Estadística e Informática. Disponible en: www.minsa.gob.pe

PERÚ, MINISTERIO DE SALUD (MINSA). (2005g). Principales grupos de causas de morbilidad registrada en hospitalización en la ciudad de Lima: 2002, 2003. Relación de pacientes hospitalizados enviados por los estados de salud. Oficina de Estadística e Informática. Disponible en: www.minsa.gob.pe

PRESCOTT, L. (1999). Microbiología. p 820-825. Interamericana. Madrid.

REYNOLDS, K. (2002). *Salmonella*: Un patógeno común y mortal. Agua Latinoamérica 2 (1).

RICO, M; SÁNCHEZ MA.; IDIAQUEZ, G. (1988). Variación microbiológica de verduras regadas con aguas de reuso y un ensayo para su normalización. Memorias del I Congreso Intermunicipal de Ixmiquilpan. Hidalgo, México: 172 – 178. Disponible en: www.cepis.ops-oms.org/eswww/proyecto/repidisc/publica/repindex/rep066/resu5.html

RODRÍGUEZ, JJ. (2003a). *Escherichia coli*. Consuma seguridad, diario de la seguridad alimentaria. España. Disponible en: www.consumaseguridad.com/web/es/sociedad_y_consumo/2003/11/07/9262.php

RODRÍGUEZ, JJ. (2003b). *Salmonella*. Consuma seguridad, diario de la seguridad alimentaria. España. Disponible en: www.consumaseguridad.com/web/es/sociedad_y_consumo/2003/10/24/8990.php

RODRIGUEZ, JJ. (2003c). Científicos vinculan el consumo de frutas y verduras frescas con infecciones alimentarias. Consumer.es, diario del consumidor. España. Disponible en: www.consumer.es/web/es/actualidad/salud_y_seguridad/57305.jsp

SANCHEZ, M. (1988). Numeración de coliformes fecales, *E. coli* y clostridium sulfito reductores en verduras irrigadas con aguas residuales. Tesis de Químico Farmacéutico. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Univ. Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 77 p.

SANZ, JC. (1994). Gastroenteritis bacterianas, víricas, parasitarias y toxiinfecciones alimentarias. En: Procedimientos en microbiología clínica. Picazo, J. (ed). Ed. de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid.

SHULMAN, P. (1997). Enfermedades infecciosas: Bases clínicas y biológicas. 5^a ed. p 258-265. Interamericana. México D. F.

SILLER, J.; BÁEZ, M.; SAÑUDO, A. (2002). Manual de buenas prácticas agrícolas para frutas y hortalizas frescas. Publicación del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo Mexicano (CIAD). 1ª Ed. 64 p. Disponible en: http://web2.senasica.sagarpa.gob.mx/xportal/inocd/inagri/Doc670/manual_BPA_1.pdf

SISTEMA DE INFORMACIÓN REGIONAL PARA LA VIGILANCIA DE LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS (SIRVETA). (2005a). Alimentos implicados en los brotes de ETA en las Américas: 1998-2001. La protección de los alimentos y la salvaguardia de la salud pública. Disponible en: http://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/VP/ops98-02_ch04-vet.pdf

SISTEMA DE INFORMACIÓN REGIONAL PARA LA VIGILANCIA DE LAS ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS (SIRVETA). (2005b). Vigilancia epidemiológica: 1993 – 2002. Disponible en: www.panalimentos.org/sirveta/e/report_eta01.asp

SOLON, P. y GUTIERREZ, S. (2001). La Paz consume verduras regadas con aguas del río Choqueyapu. Publicación de la Comisión para la Gestión Integral del Agua en Bolivia. Disponible en: www.aguabolivia.org/prensaX/Prensa/2001/Enero/20-26/COa240101.htm

TERRAGNO R.; CAFFER M.; BRUNO, S.; *et al.* (2003). *Salmonella*: Manual de procedimientos de aislamiento, identificación y serotipificación. Publicación del Departamento de Bacteriología del Instituto Nacional Argentino de Enfermedades Infecciosas (INEI). 46 p.

TULCHINSKY, T.; BURLA, E.; CLAYMAN, M. *et al.* (2000). Safety of community drinking water and outbreaks of waterborne enteric disease in Israel: 1976 – 1997. Bulletin of the World Health Organization 78 (12): 1466 –1473.

VADILLO, S.; PIRIZ, S.; MATEOS, E. (2002). Manual de microbiología médica veterinaria. Interamericana Mc-Graw Hill. Madrid.

VAZ DA COSTA-VARGAS, S.; MARA, D.; VARGAS-LOPEZ, C. (1991). Residual faecal contamination on effluent-irrigated lettuces. Water Science Technology 24 (9): 89-94.

VILLALOBOS, H. (2004). Buenas prácticas para el manejo de productos agrícolas. Publicación del área de Normas y Certificación del Consejo Nacional de Producción del Mercanet. San José, Costa Rica. Disponible en: www.mercanet.cnp.go.cr/Calidad/Normas_y_Certificaci%C3%B3n/Inocuidad/buenaspracticas.htm

VIII. APÉNDICES

APÉNDICE 1. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE COLIFORMES (MÉTODO 3, ICSMF, 1999)

I) PREPARACION DE DILUCIONES

Se pesaron 10 g representativos de la muestra de vegetal y se homogeneizó con 90 ml de agua peptonada al 0.1% (A. P. 0.1%), obteniéndose la dilución 10^{-1} . De ésta, se extrajo 1 ml y se transfirió a un tubo que contenía 9 ml de A. P. 0.1%, obteniéndose la dilución 10^{-2} . De la misma manera, se obtuvo la dilución 10^{-3} .

II) RECUENTO DE COLIFORMES

Se inoculó 1 ml de cada dilución en tubos de caldo lactosa bilis (2%) verde brillante (CLVBB), utilizándose 3 tubos por cada dilución, y se les incubó a 35 –37° C. Pasadas 24 horas, se anotaron los tubos que mostraron producción de gas y quedaron seleccionados para la determinación de coliformes fecales (CF). Aquellos tubos gas positivo luego de 48 horas de incubación también fueron considerados. Se calculó el NMP con el número de tubos positivos por dilución y la tabla respectiva (Apéndice 3).

Los tubos CLVBB seleccionados fueron confirmados mediante la siembra en agar bilis lactosa rojo neutro cristal violeta (VRBA), incubado a 35 – 37° C durante 24 horas. La presencia de coliformes se manifestó por colonias de color rojo oscuro y con diámetro mayor a 5 mm. Se anotó el número de tubos confirmados en cada dilución como positivos de coliformes y se calculó el NMP de coliformes (Apéndice 3).

III) DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES

Se inoculó un asa de cada tubo CLVBB seleccionado, en un tubo de CLVBB y en otro de agua de peptona y se les incubó a $44 \pm 0.1^{\circ}$ C. Después de 24 horas, se realizó la prueba del indol en el agua de peptona y se observó si los tubos de CLVBB presentaron gas, repitiéndose esta observación a las 48 horas de incubación.

Los cultivos que resultaron simultáneamente, gas e indol positivos, se consideraron como coliformes fecales. Se anotaron los tubos positivos por dilución y se determinó el NMP de coliformes fecales (Apéndice 3).

IV) PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN DE COLIFORMES (IMVIC)

A) Técnica para el aislamiento y purificación de cultivos

Se sembró un asa de cada tubo de CLVBB gas positivo a coliformes fecales en placas de agar eosina azul de metileno, para ser incubadas a 35 – 37° C. Pasadas las 24 horas, se tomó una colonia representativa (nucleada, con o sin brillo metálico) de cada placa y se resembró en una placa de agar nutritivo, para ser incubada a 35 – 37° C.

Pasadas las 24 horas, se seleccionaron colonias individuales y se sembraron cada una en agar nutritivo inclinado y en caldo lactosado, para ser incubados a 35 – 37° C durante 24 horas. A partir de los cultivos gas positivos en caldo lactosado, se tiñó una extensión por el método de Gram para confirmar la presencia de bacilos Gram negativos no esporulados, y partir de cultivos de 24 horas en agar nutritivo inclinado se inocularon los medios IMViC.

B) Prueba del Indol

Se inocularon tubos de caldo triptona o de agua de peptona y se incubaron a 35 – 37° C. Luego de 24 horas de incubación, se añadió a cada tubo 0.2 – 0.3 ml del reactivo de Kovacs y se agitó. Al cabo de 10 minutos, la aparición de un color rojo oscuro en la superficie de la capa de alcohol amílico indicó un resultado positivo.

C) Prueba del Rojo de Metilo

Se inocularon tubos de caldo glucosa tamponado y se incubaron a 35 – 37° C durante 5 días. Pasado ese tiempo, se añadió a cada tubo 5 gotas de la solución de rojo de metilo y se agitó. Se anotó como positivo cuando apareció un color rojo bien definido y como negativo si el color fue amarillo.

D) Prueba de Voges-Proskauer

Se inocularon tubos de caldo glucosa tamponado y se incubaron a 35 –37° C. Luego de 48 horas de incubación, se añadió a cada tubo 0.6 ml de la solución de naftol y 0.2 ml de la solución de hidróxido potásico. Se agitaron los tubos y se dejaron en reposo durante 2 a 4 horas. La aparición de un color rosa a carmesí se anotó como prueba positiva.

E) Prueba del Citrato Sódico

Se sembraron tubos de agar citrato de Simmons, por picadura en la columna de agar y por estría en la superficie inclinada. Luego de ser incubados a 35 –37° C durante 48 horas, se anotó como reacción positiva si hubo crecimiento, el cual fue visible por el cambio del color verde claro del medio al azul, y como negativo cuando no lo fue.

APÉNDICE 2. PROCEDIMIENTO PARA EL AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE SALMONELAS (ICSMF, 1999)

I) ENRIQUECIMIENTO NO SELECTIVO O PRE-ENRIQUECIMIENTO

Se pesaron 25 g representativos de la muestra de vegetal y se homogeneizó con 225 ml de agua peptonada tamponada al 1% (APT 1%). Se incubó durante 18-24 horas a 35-37 ° C.

II) ENRIQUECIMIENTO SELECTIVO

Se inoculó 1 ml del cultivo anterior en un tubo con caldo selenito cistina y 1 ml en otro conteniendo caldo tetrationato verde brillante. Ambos tubos fueron incubados en baño de agua a 43 ± 0.05 ° C durante 24 horas.

III) SIEMBRA EN PLACA EN MEDIOS DE AGAR SELECTIVO

Se sembró un asa de cada tubo en placas de agar verde brillante, Salmonella – Shigella y sulfito de bismuto y se incubaron a 35 – 37° C durante 24 y 48 horas, éste último. Las colonias típicas de *Salmonella* en el agar verde brillante fueron incoloras, rosa o fucsia o traslúcidas a opacas, con el medio que las rodea de color rosa a rojo; mientras que en el agar Salmonella – Shigella se presentaron incoloras o transparentes y con el centro negro. En el agar sulfito de bismuto aparecieron marrones o grises a negro, a veces con un brillo metálico y con el medio que las rodea generalmente marrón al principio, cambiando a negro según el tiempo de incubación.

IV) EXPLORACIÓN BIOQUÍMICA

Se tomó una colonia sospechosa de cada uno de los medios y se resembró en tubos de agar triple azúcar hierro (TSI) y lisina hierro (LIA), inclinados, mediante siembra en estría en la superficie inclinada y picadura en la columna de agar. Los tubos fueron incubados a 35 – 37° C durante 24 horas.

Los cultivos sospechosos de *Salmonella* mostraron en el agar TSI, las partes inclinadas alcalinas (color rojo) y las columnas de medio ácidas (color amarillo), con o sin producción de SH_2 que da lugar al ennegrecimiento del agar; mientras que en el agar lisina hierro presentaron una reacción alcalina (color púrpura) en todo el medio, con o sin producción de SH_2 (ennegrecimiento).

V) TÉCNICA PARA LA REACCIÓN CON EL ANTISUERO POLIVALENTE O (SOMÁTICO)

Se marcaron dos secciones de aprox. 1 x 2 cm. sobre la cara interna de una placa de Petri de vidrio o sobre un portaobjetos, depositándose en la parte superior de cada sección marcada un asa de cultivo sospechoso en agar TSI de 24 – 48 horas de incubación, y en la parte inferior de cada zona, una gota de una solución de NaCl al 0.85%. A continuación, se emulsionó el cultivo con la solución salina en ambas secciones.

Se añadió una gota de antisuero *Salmonella* polivalente O a una de las secciones de cultivo emulsionado y se mezcló. Se balanceó durante un minuto las mezclas de ambas secciones y se observaron a continuación sobre fondo oscuro, clasificándose la reacción como positiva cuando hubo aglutinación en la mezcla cultivo – solución salina – suero y no en la mezcla cultivo – solución salina.

**APÉNDICE 3. NÚMERO MÁS PROBABLE (NMP) DE COLIFORMES Y/O
Escherichia coli POR GRAMO DE MUESTRA**

| Número de tubos positivos por dilución | | | NMP | Número de tubos positivos por dilución | | | NMP | Número de tubos positivos por dilución | | | NMP |
|--|------------------|------------------|-----|--|------------------|------------------|-----|--|------------------|------------------|-------|
| 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | | 10 ⁻¹ | 10 ⁻² | 10 ⁻³ | |
| 0 | 0 | 0 | <3 | 1 | 1 | 1 | 11 | 2 | 2 | 3 | 42 |
| 0 | 0 | 1 | 3 | 1 | 1 | 2 | 15 | 2 | 3 | 0 | 29 |
| 0 | 0 | 2 | 6 | 1 | 1 | 3 | 19 | 2 | 3 | 1 | 36 |
| 0 | 0 | 3 | 9 | 1 | 2 | 0 | 11 | 2 | 3 | 2 | 44 |
| 0 | 1 | 0 | 3 | 1 | 2 | 1 | 16 | 2 | 3 | 3 | 53 |
| 0 | 1 | 1 | 6.1 | 1 | 2 | 2 | 20 | 3 | 0 | 0 | 23 |
| 0 | 1 | 2 | 9.2 | 1 | 2 | 3 | 24 | 3 | 0 | 1 | 39 |
| 0 | 1 | 3 | 12 | 1 | 3 | 0 | 16 | 3 | 0 | 2 | 64 |
| 0 | 2 | 0 | 6.2 | 1 | 3 | 1 | 20 | 3 | 0 | 3 | 95 |
| 0 | 2 | 1 | 9.3 | 1 | 3 | 2 | 24 | 3 | 1 | 0 | 43 |
| 0 | 2 | 2 | 12 | 1 | 3 | 3 | 29 | 3 | 1 | 1 | 75 |
| 0 | 2 | 3 | 16 | 2 | 0 | 0 | 9 | 3 | 1 | 2 | 120 |
| 0 | 3 | 0 | 9.4 | 2 | 0 | 1 | 14 | 3 | 1 | 3 | 160 |
| 0 | 3 | 1 | 13 | 2 | 0 | 2 | 20 | 3 | 2 | 0 | 93 |
| 0 | 3 | 2 | 16 | 2 | 0 | 3 | 26 | 3 | 2 | 1 | 150 |
| 0 | 3 | 3 | 19 | 2 | 1 | 0 | 15 | 3 | 2 | 2 | 210 |
| 1 | 0 | 0 | 3.6 | 2 | 1 | 1 | 20 | 3 | 2 | 3 | 290 |
| 1 | 0 | 1 | 7.2 | 2 | 1 | 2 | 27 | 3 | 3 | 0 | 240 |
| 1 | 0 | 2 | 11 | 2 | 1 | 3 | 34 | 3 | 3 | 1 | 460 |
| 1 | 0 | 3 | 15 | 2 | 2 | 0 | 21 | 3 | 3 | 2 | 1100 |
| 1 | 1 | 0 | 7.3 | 2 | 2 | 1 | 28 | 3 | 3 | 3 | >1100 |

FUENTE: Norma ITINTEC 202.089. Método de ensayo microbiológico para la detección y numeración de *E. coli* en quesos. Agosto, 1982.

APÉNDICE 4. REACCIONES BIOQUÍMICAS DE ENTEROBACTERIACEAE EN TSI – LIA (Grados, 1982)

| GRUPO I HIDRÓGENO SULFURADO (H₂S) POSITIVOS | | | | | | GRUPO II HIDRÓGENO SULFURADO (H₂S) NEGATIVOS | | | | | |
|---|------------|-----------------------|------------|--------------|-------------------------|--|------------|-----------------------|------------|--------------|-----------------------|
| ANAEROGENICOS (GAS NEGATIVO) | | | | | | ANAEROGENICOS (GAS NEGATIVO) | | | | | |
| <i>TSI</i> | <i>GAS</i> | <i>H₂S</i> | <i>LIA</i> | <i>INDOL</i> | <i>ENTEROBACTERIA</i> | <i>TSI</i> | <i>GAS</i> | <i>H₂S</i> | <i>LIA</i> | <i>INDOL</i> | <i>ENTEROBACTERIA</i> |
| K/A | -- | ± ó + | K / K | -- | <i>Salmonella typhi</i> | K/A | -- | -- | K/A | -- ó + | Shigella |
| AEROGENICOS (GAS POSITIVO) | | | | | | AEROGENICOS (GAS POSITIVO) | | | | | |
| <i>TSI</i> | <i>GAS</i> | <i>H₂S</i> | <i>LIA</i> | <i>INDOL</i> | <i>ENTEROBACTERIA</i> | <i>TSI</i> | <i>GAS</i> | <i>H₂S</i> | <i>LIA</i> | <i>INDOL</i> | <i>ENTEROBACTERIA</i> |
| K/A | 2+ ----- | 4+ | K/K | -- | Salmonella | A/A ó K/A | -- | -- | K/K ó K/A | + | Escherichia |
| K/A ó A/A | 2+ ----- | 4+ | K/K | -- | Arizona | A/A ó K/A | -- | -- | K/A | -- ó + | Enterobacter |
| K/A ó A/A | 2+ ----- | 4+ | K/A | -- | Citrobacter | A/A | -- | -- | K/K | -- | Serratia |
| K/A ó A/A | 2+ ----- | 4+ | R/A | -- ó + | Proteus | K/A | -- | -- | R/A | + | Proteus |
| K/A ó A/A | 2+ ----- | 4+ | R/A | -- ó + | Proteus | K/A | -- | -- | R/A | + | Providencia |
| K/A | 2+ | 4+ | K/K | + | Edwardsiella | A/A | -- | -- | A/A ó K/A | -- ó + | Yersinia |
| AEROGENICOS (GAS POSITIVO) | | | | | | AEROGENICOS (GAS POSITIVO) | | | | | |
| <i>TSI</i> | <i>GAS</i> | <i>H₂S</i> | <i>LIA</i> | <i>INDOL</i> | <i>ENTEROBACTERIA</i> | <i>TSI</i> | <i>GAS</i> | <i>H₂S</i> | <i>LIA</i> | <i>INDOL</i> | <i>ENTEROBACTERIA</i> |
| A/A ó K/A | 2 + | -- | K/K ó K/A | + | Escherichia | A/A | 4 + | -- | K/K | – ó + | Klebsiella |
| A/A | 4 + | -- | K/K | – ó + | Klebsiella | A/A ó K/A | 3 + | -- | K/K ó K/A | -- | Entrobacter |
| A/A ó K/A | 3 + | -- | K/K ó K/A | -- | Entrobacter | K/A ó A/A | 2 + | -- | K/K | -- | Serratia |
| K/A ó A/A | 2 + | -- | K/K | -- | Serratia | K/A | (+) | -- | K/A ó R/A | + | Proteus |
| K/A | (+) | -- | K/A ó R/A | + | Proteus | K/A | + | -- | K/A ó A/A | -- | paratyphi A |

K = Alcalino

A = Ácido

R = Rojo

N = Neutro

IX. ANEXOS

ANEXO 1. Numeración de coliformes fecales (NMP) en lechuga, col y espinaca expendidas en cuatro mercados.

| Número de muestra | Mercado 1 | | | Mercado 2 | | | Mercado 3 | | | Mercado 4 | | |
|-------------------|-----------|-------|----------|-----------|-----|----------|-----------|--------|----------|-----------|-----|----------|
| | NMP / g | | | NMP / g | | | NMP / g | | | NMP / g | | |
| | Lechuga | Col | Espinaca | Lechuga | Col | Espinaca | Lechuga | Col | Espinaca | Lechuga | Col | Espinaca |
| 01 | 4 | 23 | 15 | 3 | 23 | >1.100 | 9 | 3 | 28 | 4 | <3 | 93 |
| 02 | < 3 | < 3 | 43 | 93 | <3 | 460 | 16 | 93 | 210 | <3 | <3 | 15 |
| 03 | 7 | 9 | 240 | 93 | <3 | 23 | 53 | 29 | 460 | 23 | 150 | 240 |
| 04 | < 3 | < 3 | 240 | 460 | 23 | 1.100 | >1.100 | <3 | 1.100 | 23 | 4 | 1.100 |
| 05 | 1.100 | < 3 | 21 | 4 | <3 | 16 | 4 | >1.100 | 240 | 23 | <3 | 240 |
| 06 | 4 | 16 | 160 | <3 | <3 | 14 | 43 | <3 | 120 | 120 | 43 | 29 |
| 07 | < 3 | < 3 | 28 | <3 | <3 | 150 | 24 | <3 | 9 | 7 | <3 | 4 |
| 08 | 9 | < 3 | 15 | <3 | 3 | 9 | 20 | 29 | 43 | 16 | <3 | 4 |
| 09 | 15 | 23 | 4 | 11 | <3 | <3 | 24 | 9 | 21 | <3 | 9 | 36 |
| 10 | < 3 | 15 | 93 | 23 | <3 | 460 | 21 | 21 | 14 | 7 | 43 | 44 |
| 11 | < 3 | 15 | 15 | 93 | 11 | 20 | 460 | <3 | 4 | 4 | 7 | 9 |
| 12 | < 3 | < 3 | 460 | 43 | 15 | 28 | 43 | 4 | 36 | 16 | 3 | 1.100 |
| 13 | 9 | 39 | 240 | 39 | <3 | 150 | 11 | <3 | 16 | 6 | <3 | 29 |
| 14 | 462 | 1.100 | >1.100 | <3 | <3 | 23 | 9 | <3 | 9 | <3 | <3 | 7 |
| 15 | 23 | < 3 | 240 | 15 | <3 | 27 | 29 | <3 | 28 | 240 | 150 | >1.100 |

NMP: Número mas Probable

ANEXO 2. Numeración de *E. coli* Tipo I (Típico) (NMP) en lechuga, col y espinaca expendidas en cuatro mercados.

| Número de muestra | Mercado 1 | | | Mercado 2 | | | Mercado 3 | | | Mercado 4 | | |
|-------------------|-----------|-----|----------|-----------|-----|----------|-----------|-----|----------|-----------|-----|----------|
| | NMP / g | | | NMP / g | | | NMP / g | | | NMP / g | | |
| | Lechuga | Col | Espinaca | Lechuga | Col | Espinaca | Lechuga | Col | Espinaca | Lechuga | Col | Espinaca |
| 01 | <3 | 4 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| 02 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| 03 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| 04 | <3 | <3 | 3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| 05 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| 06 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| 07 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| 08 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| 09 | <3 | 4 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| 10 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| 11 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| 12 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| 13 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | 3 | <3 | 16 |
| 14 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |
| 15 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 | <3 |

NMP: Número mas Probable

ANEXO 3. Resumen de las pruebas bioquímicas aplicadas a los cultivos sospechosos de *Escherichia coli* (*) en lechuga, col y espinaca expandidas en cuatro mercados.

| Mercado de procedencia | | Mercado 1 | | | | | | Mercado 2 | | | | | | Mercado 3 | | | | | | Mercado 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-----------------|-----------|-----|---|--------|-----|----|-----------|-----|----|--------|-----|----|-----------|-----|----|--------|-----|----|-----------|-----|----|--------|-----|----|--------|-----|----|--------|-----|---|--------|-----|---|--------|----|----|
| Verdura / n de muestras con tubos sospechosos de <i>E. coli</i> | | L / 09 | | | C / 08 | | | E / 15 | | | L / 11 | | | C / 05 | | | E / 14 | | | L / 15 | | | C / 08 | | | E / 15 | | | L / 12 | | | C / 08 | | | E / 15 | | |
| Diluciones | | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | a | b | c | | | |
| Nº tubos sospechosos / dilución | | 18 | 8 | 3 | 19 | 7 | 4 | 38 | 29 | 8 | 25 | 13 | 3 | 9 | 2 | 2 | 34 | 24 | 15 | 28 | 28 | 14 | 15 | 14 | 3 | 34 | 24 | 12 | 20 | 10 | 8 | 16 | 8 | 2 | 30 | 32 | 17 |
| Nº tubos sospechosos / verdura y Resultados | | 29 | | | 30 | | | 75 | | | 41 | | | 13 | | | 73 | | | 70 | | | 32 | | | 70 | | | 38 | | | 26 | | | 79 | | |
| | | (+) | (-) | | (+) | (-) | | (+) | (-) | | (+) | (-) | | (+) | (-) | | (+) | (-) | | (+) | (-) | | (+) | (-) | | (+) | (-) | | (+) | (-) | | (+) | (-) | | | | |
| P b i o q u i m i c a s | Indol | 19 | 10 | | 10 | 20 | 47 | 28 | 20 | 21 | 01 | 12 | 34 | 39 | 41 | 29 | 14 | 18 | 41 | 29 | 06 | 32 | 02 | 24 | 13 | 66 | | | | | | | | | | | |
| | Rojo de Metilo | 04 | 25 | | 04 | 26 | 06 | 69 | 0 | 41 | 0 | 13 | 0 | 73 | 0 | 70 | 01 | 31 | 02 | 68 | 08 | 30 | 01 | 25 | 20 | 59 | | | | | | | | | | | |
| | Voges-Proskauer | 16 | 13 | | 09 | 21 | 40 | 35 | 14 | 27 | 02 | 11 | 21 | 52 | 37 | 33 | 19 | 13 | 34 | 36 | 28 | 10 | 23 | 03 | 53 | 26 | | | | | | | | | | | |
| | Citrato | 24 | 05 | | 23 | 07 | 62 | 13 | 39 | 02 | 13 | 0 | 71 | 02 | 53 | 17 | 28 | 04 | 59 | 11 | 30 | 08 | 19 | 07 | 52 | 27 | | | | | | | | | | | |

L: lechuga, C: col. E: espinaca; a: 10^{-1} , b: 10^{-2} , c: 10^{-3}

n verduras / mercado: 15 de cada una

(*) Se consideraron como positivos a *E. coli* Tipo I (Típico) aquellos cultivos que resultaron, simultáneamente, positivos a Indol y Rojo de Metilo y negativos a Voges-Proskauer y Citrato.

ANEXO 4. Resultados de las pruebas bioquímicas aplicadas a los cultivos sospechosos de *Escherichia coli* en lechuga, col y espinaca expandidas en cuatro mercados.

Mercado 1:

| LECHUGA (<i>Lactuca sativa</i>) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|----|---|---|---|---|---|---|----|---|--|
| Nº de muestra | | 1 | 3 | | 5 | | | | | | | | 6 | 8 | | | 9 | | | 13 | | 14 | | | | | | | 15 | | |
| Nº tubos / muestra | | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 2 | 3 | |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | + | - | + | - | + | - | + | + | - | - | + | - | + | - | + | - | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | |
| | Rojo de Metilo | - | - | + | + | - | + | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| | Voges-Proskauer | + | - | + | - | - | + | - | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | |
| | Citrato | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | - | - | + | - | + | + | + | + | + | |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | | X | X | X | | | | | | X | X | X | X | X | | X | X | X | X | X | | | | | X | X | X | |
| | 10 ⁻² | | | X | | | | X | X | X | | | | | | | | X | | | | | | X | X | X | | | | | |
| | 10 ⁻³ | | | | | | | | | | X | X | | | | | | | | | | | | | | | X | | | | |

| COL (<i>Brassica oleracea</i>) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|------------------|---|----------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----------------|---|----|---|---|----|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|---|---|---|---|
| Nº de muestra | | 1 | | | 3 | | 6 | | | | 9 | | | 10 | | | 11 | | | 13 | | | | 14 | | | | | | | |
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | + | - | + | + | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Rojo de Metilo | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Voges-Proskauer | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | - | + | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Citrato | + | - | - | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | - | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | <i>E. coli</i> | X | X | X | X | | | | X | <i>E. coli</i> | X | X | X | | X | X | | X | X | X | | X | X | X | | | | | |
| | 10 ⁻² | | | | | | | X | X | | | | | | X | | | | X | | | | | | | | X | X | X | | |
| | 10 ⁻³ | | | | | | | | | X | | | | | | | | | | | | X | | | | | | | | X | X |

| ESPINACA (<i>Spinacea oleracea</i>) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nº de muestra | | 1 | | | 2 | | | | 3 | | | | | | 4 | | | | | | 5 | | | | 6 | | | | | | | |
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | - | - | - | + | - | + | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | - | - | + | |
| | Rojo de Metilo | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| | Voges-Proskauer | + | - | - | + | + | + | + | + | + | - | + | - | - | + | + | + | + | - | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - | |
| | Citrato | + | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | | X | X | X | | X | X | X | | | | X | X | X | | | | X | X | | | X | X | X | | | | | |
| | 10 ⁻² | | | X | | | | X | | | | | X | X | X | | | | X | <i>E. coli</i> | X | | | X | X | | | | X | | | |
| | 10 ⁻³ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | X | X | X |

| Nº de muestra | | 7 | | | | | 8 | | | 9 | 10 | | | | | 11 | | | 12 | | | | | | | 13 | | | | | |
|---------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|---|---|----|---|---|----|---|---|---|---|---|---|----|---|---|---|---|---|
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 1 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | + | - | + | - | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Voges-Proskauer | + | + | - | + | + | + | - | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | + | - | + | + | + | + | + | + |
| | Citrato | + | - | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | | | | X | X | | X | X | X | X | | | X | X | | X | X | X | | | | | X | X | X | | | |
| | 10 ⁻² | | | X | X | | | | X | | | | | X | X | | | X | | | | X | X | X | | | | | X | X | X |
| | 10 ⁻³ | | | | | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | X | | | | | | |

| Nº de muestra | | 14 | | | | | | | | | 15 | | | | | |
|---------------------|------------------|----|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|---|---|---|
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | - |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Voges-Proskauer | - | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Citrato | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | - | + | + | - |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | X | | | | | | | X | X | X | | | |
| | 10 ⁻² | | | | X | X | X | | | | | | | X | X | X |
| | 10 ⁻³ | | | | | | | X | X | X | | | | | | |

Mercado 2:

| LECHUGA (<i>Lactuca sativa</i>) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|----|---|---|---|--|
| Nº de muestra | | 1 | 2 | | | | | 3 | | | | | 4 | | | | | | | 5 | 9 | | | | 10 | | | 11 | | | | |
| Nº tubos / muestra | | 1 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | - | - | + | - | - | + | + | - | + | - | - | - | - | - | - | + | - | |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| | Voges-Proskauer | - | + | + | - | + | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | - | - | - | + | + | + | + | - | - | - | - | - | + | + | - | |
| | Citrato | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | | X | X | X | | | X | X | X | | | X | X | X | | | | | X | X | | | X | X | X | X | X | X | | | |
| | 10 ⁻² | | | | | X | X | | | | X | X | | | | X | X | X | | | | X | X | | | | | | | X | X | |
| | 10 ⁻³ | X | | | | | | | | | | | | | | | | | X | | | | | | | | | | | | | |

| Nº de muestra | | 12 | | | | 13 | | | | 15 | | |
|---------------------|------------------|----|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | + | + | + | - | - | - | - | - | + | - |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Voges-Proskauer | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - |
| | Citrato | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | X | | X | X | X | | X | X | |
| | 10 ⁻² | | | | X | | | | | | | X |
| | 10 ⁻³ | | | | | | | X | | | | |

| COL (<i>Brassica oleracea</i>) | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|----|---|---|
| Nº de muestra | | 1 | | | 4 | | | 8 | 11 | | | 12 | | |
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Voges-Proskauer | - | - | - | - | - | - | + | - | + | + | - | - | - |
| | Citrato | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | X | X | X | X | | X | | | X | X | |
| | 10 ⁻² | | | | | | | | | X | | | | X |
| | 10 ⁻³ | | | | | | | X | | | X | | | |

| ESPINACA (<i>Spinacea oleracea</i>) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nº de muestra | | 1 | | | | | | | | | 2 | | | | | | | 3 | | | 4 | | | | | | | | 5 | | | |
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | + | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | - | + | + | - | + | + | + | |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| | Voges-Proskauer | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - |
| | Citrato | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | X | | | | | | | X | X | X | | | | | X | X | X | X | X | X | | | | | | X | | | |
| | 10 ⁻² | | | | X | X | X | | | | | | | X | X | X | | | | | | | | X | X | X | | | | X | X | |
| | 10 ⁻³ | | | | | | | X | X | X | | | | | | | X | | | | | | | | | | X | X | | | | X |

| Nº de muestra | | 6 | | | 7 | | | | | | 8 | | 10 | | | | | | | 11 | | | | | 12 | | | | |
|---------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|---|---|---|---|----|---|---|---|---|----|---|---|---|---|
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | - | - | + | + | - | - | - | - | + | + | - | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | + | - |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Voges-Proskauer | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - | + | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | - | - | - | + |
| | Citrato | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | | X | X | X | | | | X | X | X | X | X | | | | | X | | | | | X | X | | | |
| | 10 ⁻² | | | | | | | X | X | | | | | | | | X | X | X | | | X | X | X | | | | X | X |
| | 10 ⁻³ | | | X | | | | | | X | | | | | | | | | X | | | | | X | | | | | X |

| Nº de muestra | | 13 | | | | | | 14 | | | 15 | | | | |
|---------------------|------------------|----|---|---|---|---|---|----|---|---|----|---|---|---|---|
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | - | - | - | + | - | + | + | + | - | - | - | + | + |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Voges-Proskauer | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - | - |
| | Citrato | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | X | | | | X | X | X | X | X | | | |
| | 10 ⁻² | | | | X | X | | | | | | | X | | |
| | 10 ⁻³ | | | | | | X | | | | | | | X | X |

Mercado 3:

| LECHUGA (<i>Lactuca sativa</i>) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nº de muestra | | 1 | | 2 | | | | 3 | | | | | | | | 4 | | | | | | | | | 5 | 6 | | | |
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 1 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| | Voges-Proskauer | - | + | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | + | + | - | - | - | - | + | - | + | - | - | + | + | + | + | |
| | Citrato | - | + | + | + | + | - | + | - | + | + | + | + | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | X | | | | X | X | | | | | | | X | X | X | | | | | | | X | X | X | | |
| | 10 ⁻² | | | | X | X | | | | X | X | X | | | | | | | X | X | X | | | | | | X | | |
| | 10 ⁻³ | | | | | | X | | | | | | X | X | X | | | | | | | X | X | X | | | | | |

| Nº de muestra | | 7 | | | | | | 8 | | | | | 9 | | | | | | 10 | | | | 11 | | | | | | |
|---------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|---|----|---|---|---|---|---|---|
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | + | + | + | + | + | + | + | - | + | - | + | + | + | + | + | - | + | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | + |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | |
| | Voges-Proskauer | + | + | + | + | + | + | + | - | + | - | + | - | - | + | + | - | + | - | + | - | - | + | + | + | - | - | - | - |
| | Citrato | + | + | - | + | + | + | - | - | + | + | + | - | - | - | + | + | - | + | + | + | + | - | + | + | + | + | - | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | | | | | | X | | | | | X | | | | | | X | X | | | X | X | X | | | | |
| | 10 ⁻² | | X | X | X | | | | X | X | X | | | X | X | X | | | | | X | X | | | | X | X | X | |
| | 10 ⁻³ | | | | | X | X | | | | | X | | | | | X | X | | | | | | | | | | | X |

| Nº de muestra | | 12 | | | | 13 | | | 14 | | 15 | | | | |
|---------------------|------------------|----|---|---|---|----|---|---|----|---|----|---|---|---|---|
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | - | - |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Voges-Proskauer | + | + | + | + | - | - | - | + | + | - | - | - | - | - |
| | Citrato | + | - | + | - | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | X | | X | | | X | X | X | X | | | |
| | 10 ⁻² | | | | X | | X | | | | | | X | X | X |
| | 10 ⁻³ | | | | | | | X | | | | | | | |

| COL (<i>Brassica oleracea</i>) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nº de muestra | | 1 | 2 | | | | | 3 | | | | | 5 | | | | | | | | | 8 | | | | | 9 | |
| Nº tubos / muestra | | 1 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | + | + | + | + | + | + | - | - | + | - | + | - | - | - | - | - | + | - | + | + | - | - | - | - | - | - | + |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Voges Proskauer | - | - | + | - | + | - | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Citrato | + | + | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | - |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | | X | X | X | | | X | X | | | | X | X | X | | | | | | | X | X | | | | X | X |
| | 10 ⁻² | X | | | | X | X | | | X | X | X | | | | X | X | X | | | | | | X | X | X | | |
| | 10 ⁻³ | | | | | | | | | | | | | | | | | | X | X | X | | | | | | | |

| Nº de muestra | | 10 | | | | 12 |
|---------------------|------------------|----|---|---|---|----|
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | + | + | - | - | - |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - |
| | Voges Proskauer | + | + | + | + | + |
| | Citrato | + | + | + | + | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | | | X |
| | 10 ⁻² | | | X | X | |
| | 10 ⁻³ | | | | | |

| ESPINACA (<i>Spinacea oleracea</i>) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nº de muestra | | 1 | | | | | 2 | | | | | | | 3 | | | | | | | 4 | | | | | | | |
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Voges Proskauer | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Citrato | - | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | | | | X | X | X | | | | | X | X | X | | | | | X | X | X | | | | | |
| | 10 ⁻² | | | X | X | | | | | X | X | | | | | | X | X | X | | | | | X | X | X | | |
| | 10 ⁻³ | | | | | X | | | | | | X | X | | | | | | | X | | | | | | | X | X |

| Nº de muestra | | 5 | | | | | | 6 | | | | | | 7 | | 8 | | | | 9 | | | | 10 | | | 11 |
|---------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|----|
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 1 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | + | + | + | - | - | + | - | - | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - | + | + | - | + | + | - | - | - |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Voges Proskauer | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | + | + | + | + | - | + | + |
| | Citrato | + | + | + | - | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | - | + | - | + | + | + | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | X | | | | X | X | X | | | | X | X | X | X | X | | X | X | | | X | X | | X |
| | 10 ⁻² | | | | X | X | X | | | | X | | | | | | | | X | | | X | X | | | | |
| | 10 ⁻³ | | | | | | | | | | | X | X | | | | | | | | | | | | X | | |

| Nº de muestra | | 12 | | | | | | 13 | | | | 14 | | 15 | | | | |
|---------------------|------------------|----|---|---|---|---|---|----|---|---|---|----|---|----|---|---|---|---|
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | + | - | - | + | + | + | - | - | - | - | + | + | - | - | - | - | + |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | + |
| | Voges Proskauer | + | + | + | + | + | + | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - | - |
| | Citrato | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | - | + | + | - | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | | | | X | | | | | X | X | X | X | | | |
| | 10 ⁻² | | | X | X | X | | X | X | | | | | | | X | X | |
| | 10 ⁻³ | | | | | X | | | | X | | | | | | | | X |

Mercado 4:

| LECHUGA (<i>Lactuca sativa</i>) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|----|--|
| Nº de muestra | | 1 | | 3 | | 4 | | | 5 | | | 6 | | | | | | 7 | | 8 | | | | 10 | | 11 | |
| Nº tubos / muestra | | 1 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 1 | |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | - | - | - | - | + | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - | - | |
| | Rojo de Metilo | - | - | + | - | + | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | |
| | Voges Proskauer | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | - | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | |
| | Citrato | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | | | | X | | X | | | | X | | X | |
| | 10 ⁻² | | | | | | | | | | | | | | X | | | | X | | X | X | | | X | | |
| | 10 ⁻³ | | | | | | | | | | | | | | | X | X | | | | | | X | | | | |

| Nº de muestra | | 12 | | | | | 13 | | 15 | | | | | |
|---------------------|------------------|----|---|---|---|---|----------------|---|----|---|---|---|---|---|
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | + | - | + | - | - | + | + | - |
| | Voges Proskauer | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + |
| | Citrato | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | | | | | | | | X | X | X | | | |
| | 10 ⁻² | X | X | | | | | | | | | X | X | X |
| | 10 ⁻³ | | | X | X | X | <i>E. coli</i> | X | | | | | | |

| COL (<i>Brassica oleracea</i>) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|---|----|---|----|----|---|---|---|---|--|
| Nº de muestra | | 3 | | | | | | 4 | 6 | | | | | 9 | | 10 | | | | 11 | | 12 | 15 | | | | | |
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - | |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | |
| | Voges Proskauer | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | + | + | + | + | + | + | |
| | Citrato | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - | - | + | + | - | + | - | + | |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | X | | | | X | X | X | X | | X | X | X | X | X | | X | | | X | X | X | | | | |
| | 10 ⁻² | | | | X | X | | | | | | X | | | | | | X | | X | X | | | | X | X | | |
| | 10 ⁻³ | | | | | | X | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | X | |

| ESPINACA (<i>Spinacea oleracea</i>) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nº de muestra | | 1 | | | | | 2 | | | | | 3 | | | | | | 4 | | | | | | | | 5 | | | | | |
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | - | - | - | - | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | + | + | + | + |
| | Voges Proskauer | + | + | - | + | + | + | - | + | + | - | + | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | + |
| | Citrato | - | + | + | - | + | + | + | + | + | | + | + | - | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | X | | | X | X | | | | X | X | X | | | | X | X | X | | | | | | X | X | X | | | |
| | 10 ⁻² | | | | X | X | | | X | | | | | | X | X | X | | | | X | X | X | | | | | | X | X | X |
| | 10 ⁻³ | | | | | | | | | X | X | | | | | | | | | | | | | X | X | | | | | | |

| Nº de muestra | | 6 | | | | | 7 | 8 | 9 | | | | | | 10 | | | | | | | 11 | | |
|---------------------|------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|---|---|---|---|----|---|---|
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 2 | 3 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Rojo de Metilo | + | + | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | Voges Proskauer | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | - | - |
| | Citrato | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | - | + | + | - | + | - | - | - |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | | | | X | X | X | X | | | | | X | X | | | | | | | | |
| | 10 ⁻² | | | X | X | X | | | | | X | X | X | | | | X | X | X | | | X | | |
| | 10 ⁻³ | | | | | | | | | | | | | X | | | | | | X | X | | X | X |

| Nº de muestra | | 12 | | | | | | | | 13 | | | | | | | 14 | | 15 | | | | | | | | |
|---------------------|------------------|----|---|---|---|---|---|---|---|----|----------------|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----|---|----|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Nº tubos / muestra | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 2 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| Pruebas bioquímicas | Indol | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | - | + | + | + | + | + | - | - | - | - | - | - | + | + | - | - |
| | Rojo de Metilo | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | + | + | + | - | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - |
| | Voges Proskauer | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | - | + | + | + | + | + | + | + |
| | Citrato | - | - | - | - | - | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | + | + | - | - | + | + |
| Diluciones | 10 ⁻¹ | X | X | X | | | | | X | | | | | | | | X | | X | X | X | | | | | | |
| | 10 ⁻² | | | | X | X | X | | | | <i>E. coli</i> | X | <i>E. coli</i> | | | | | X | | | | X | X | X | | | |
| | 10 ⁻³ | | | | | | | X | X | | | | | <i>E. coli</i> | <i>E. coli</i> | <i>E. coli</i> | | | | | | | | | X | X | X |

ANEXO 5. Relación de cepas compatibles/no compatibles con *Salmonella* spp. en lechuga, col y espinaca expendidas en cuatro mercados.

Mercado 1:

| Tipo de muestra | Número de muestra | Caldo de enriquecimiento* | Agar de aislamiento** | Bioquímica | | Serología |
|-----------------|-------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------|-----------|
| | | | | Agar Triple Azúcar Hierro | Agar Lisina Hierro | |
| Lechuga | 01 | CTVB | AVB | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |
| | 02 | CTVB | BS | K/A + - | K/A | Negativo |
| | 07 | CSC | BS | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |
| | | CTVB | BS | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |
| | 09 | CTVB | BS | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |
| | 10 | CTVB | SS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 13 | CSC | AVB | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | | CTVB | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| Col | 07 | CTVB | SS | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |
| | | CTVB | AVB | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |
| | | CTVB | BS | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |
| | 08 | CTVB | AVB | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |
| | 12 | CSC | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | | CTVB | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 13 | CSC | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | | CTVB | SS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 14 | CSC | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | | CTVB | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 15 | CSC | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |

| | | | | | | |
|-----------------|----|------|-----|----------|-----|----------|
| Espinaca | 07 | CTVB | SS | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |
| | 08 | CSC | AVB | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |
| | 11 | CTVB | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 14 | CSC | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | | CTVB | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |

*CTVB: Caldo tetracionato verde brillante, CSC: Caldo selenito cistina

**AVB: Agar verde brillante, BS: Agar bismuto sulfito, SS: Agar Salmonella - Shigella

Mercado 2:

| Tipo de muestra | Número de muestra | Caldo de enriquecimiento* | Agar de aislamiento** | Bioquímica | | Serología |
|-----------------|-------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------|-----------|
| | | | | Agar Triple Azúcar Hierro | Agar Lisina Hierro | |
| Lechuga | 03 | CSC | SS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 10 | CSC | SS | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |
| Col | 01 | CSC | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 02 | CTVB | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 04 | CTVB | AVB | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |
| | 08 | CTVB | AVB | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 10 | CSC | BS | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |
| Espinaca | 01 | CSC | AVB | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | | CSC | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | | CTVB | AVB | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 02 | CSC | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 05 | CTVB | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 08 | CTVB | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | | CSC | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 09 | CTVB | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 10 | CSC | BS | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |

*CTVB: Caldo tetracionato verde brillante, CSC: Caldo selenito cistina

**AVB: Agar verde brillante, BS: Agar bismuto sulfito, SS: Agar Salmonella - Shigella

Mercado 3:

| Tipo de muestra | Número de muestra | Caldo de enriquecimiento* | Agar de aislamiento** | Bioquímica | | Serología |
|-----------------|-------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------|-----------|
| | | | | Agar Triple Azúcar Hierro | Agar Lisina Hierro | |
| Lechuga | 04 | CSC | SS | K/A + - | K/A | Negativo |
| Col | 01 | CTVB | SS | K/A 2+4+ | K/K | Negativo |
| | 02 | CSC | BS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | | CTVB | SS | K/A 2+4+ | K/K | Positivo |
| | 06 | CSC | SS | K/A + - | K/A | Negativo |
| Espinaca | 04 | CSC | AVB | K/A + - | K/A | Negativo |

*CTVB: Caldo tetrationato verde brillante, CSC: Caldo selenito cistina

**AVB: Agar verde brillante, BS: Agar bismuto sulfito, SS: Agar Salmonella - Shigella

Mercado 4:

| Tipo de muestra | Número de muestra | Caldo de enriquecimiento* | Agar de aislamiento** | Bioquímica | | Serología |
|-----------------|-------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|--------------------|-----------|
| | | | | Agar Triple Azúcar Hierro | Agar Lisina Hierro | |
| Col | 01 | CTVB | AVB | K/A + - | K/A | Negativo |
| | 02 | CSC | BS | K/A + - | K/A | Negativo |
| | | CTVB | BS | K/A + - | K/A | Negativo |

*CTVB: Caldo tetrationato verde brillante, CSC: Caldo selenito cistina

**AVB: Agar verde brillante, BS: Agar bismuto sulfito.